

DAS VERHALTEN
VON ISO-AGGLUTININEN UND HÄMOLYSINEN IM ABO-
SYSTEM NACH AKTIVER TETANUSSCHUTZIMPFUNG

von
Heinrich Poser

München 1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Kinder-Poliklinik der Universität München (Direktor
Professor Dr. med. H. S p i e s s), der Kinderklinik
und dem Hygieneinstitut der Universität Göttingen

DAS VERHALTEN
VON ISO-AGGLUTININEN UND HÄMOLYSINEN IM ABO-
SYSTEM NACH AKTIVER TETANUSSCHUTZIMPFUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und der Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig Maximilians-Universität zu
München

vorgelegt von
Heinrich Poser
aus
3202 Bad Salzdetfurth

1972



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Spiess

Mitberichterstatter: Dr. med. E. Gallasch, Göttingen

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 12. 6. 1973

INHALTSÜBERSICHT

Seite

A Einleitung

1	Der Stand der Tetanus-Immunisierung heute - sozialmedizinische Aspekte	1
2	Der Keim	2
3	Das Toxoid - seine Gewinnung, sein A/B- Substanzgehalt	4
4	Klinische Aspekte der Untersuchung: Die Tetanusschutzimpfung und das Problem des ABO-bedingten Morbus haemolyticus neonatorum	

B Hauptteil

I	Methodik	10
1	Die Auswahl der Versuchs- und Kontroll- gruppe und des Untersuchungszeitpunktes	10
2	Die Durchführung des Versuches	11
3	Die Gewinnung und Aufarbeitung der Seren, ihre Aufbewahrung bis zur Untersuchung	12
4	Die Methodik der Haemolysinbestimmung	12
5	Die Methodik der Agglutininintiterbestimmung	13
6	Die Bestimmung des TAT-Titers mit der Agar-Gel-Diffusionsmethode der Behring- Werke	15

	<u>Seite</u>
II Auswertung	17
1 Die Ermittlung des Endtiters durch arithmetische Mittelung der Endtiter der vier Ablesungsreihen	17
2 Die Ermittlung der Titterschwankungen zwischen den drei Blutabnahmen	17
3 Kriterien für die Beurteilung der Titterschwankungen: Fehlerbreite der Methodik	18
4 Statistische Methoden zur Auswertung der Ergebnisse	19
III Ergebnisse	21
1 Das Verhalten von Iso-Agglutininen und Haemolysinen in den Kontrollgruppen	21
2 Das Verhalten von Iso-Agglutininen und Haemolysinen in den Versuchsgruppen unter Berücksichtigung von aktiver Vorimmunsierung	21
3 Die Höhe der Titerveränderungen in Beziehung zur Haemolysinbildung bei Blutgruppe O	23
4 Das Verhalten von Titern und Haemolysinen in Abhängigkeit vom TAT-Titer	26

C Diskussion

I	Weitere Möglichkeiten der Titerbeeinflussung	28
1	Die Größe der methodisch bedingten Fehlerbreite	28
2	Männlich-weibliche Heterogenität der beiden Gruppen	29
3	Stress-bedingte Titerschwankungen	30
4	Wetterabhängigkeit der Iso-Agglutinine	30
5	Ernährungsbedingte Änderung der Iso-Agglutininintiter	31
6	"Labile Iso-Agglutininintiter"	31
7	Die Veränderung der Iso-Agglutininintiter mit dem Alter	32
II	Zur Deutung der gefundenen Phänomene	33

1. Der Stand der Tetanus-Immunisierung heute - sozialmedizinische Aspekte

Nach den Unterlagen der WHO sterben jährlich etwa 200 000 Menschen an einer Tetanus-Infektion. Die asiatischen Länder, insbesondere Indien, scheinen besonders stark betroffen: So sterben von je 1 000 Einwohnern zwei an Tetanus; etwa 100 000 pro Jahr. Nach Angaben des Statistischen Bundesamtes erkrankten in der BRD etwa 150 Menschen jährlich an einer Tetanus-Infektion. Selbst unter Einsatz aller therapeutischen Möglichkeiten der modernen Anaesthesiologie beträgt die Letalität der manifesten mittelschweren und schweren Fälle noch immer um 35 %. HARMSEN (1968) schätzt die täglichen Kosten einer solchen Behandlung auf 800, -- bis 2.000, -- DM. Daher wird die aktive Tetanusschutzimpfung allgemein empfohlen.

Die lege artis durchgeführte aktive Immunisierung erfordert zwei Toxoid-Injektionen im Vierwochen-Abstand und eine Booster-Injektion nach Ablauf eines Jahres. Damit ist ein ausreichender Infektionsschutz für etwa 5 Jahre erreicht, wahrscheinlich sogar für einen noch längeren Zeitraum. HARMSEN (1968) veranschlagt für eine Durchimmunisierung der gesamten Bevölkerung der BRD etwa 12 Millionen Impfungen jährlich. Bei Verwendung des Hypospray-Jet-Injektors zur nadellosen Impfung würden sich die Impfstoffkosten für eine solche Aktion auf etwa 7 Millionen DM belaufen - etwa ein Zehntel des Aufwandes, der für die Pflege von Tetanuskranken auf einer Intensivpflegestation zu veranschlagen ist. Aus diesen Angaben erhellt sich die außerordentliche sozialmedizinische Bedeutung der Tetanus-Infektion und ihrer Prophylaxe.

2 Der Keim und sein Gift

Das *Clostridium tetani* ist ein strenger Anaerobier, der ubiquitär vorkommt. Besonders häufig ist er in humusreichen Böden zu finden, kommt aber auch saprophytisch im Darm von Rindern und Pferden sowie 30 - 40 % aller Menschen vor. Das eigentliche Toxin, das Tetanospasmin, wird optimal bei einer Milieutemperatur von $35,1^{\circ}\text{C}$ gebildet. Daneben wird noch ein Tetanolysin (immunologisch unwesentlich) gebildet, eine Peptidase (inkonstant) und eine Gelatinase, deren Pathogenität und Antigenität noch nicht geklärt sind.

Das saprophytäre Vorkommen des Keimes in tierischem und menschlichem Darminhalt veranlaßt die Frage, ob auch eine natürliche Immunität vorkommt. Mit subtilen Nachweismethoden lassen sich zwar Antitoxintiter um 0,001 IE/ml Serum beim Menschen nachweisen, sie reichen jedoch für einen wirksamen Antikörperschutz nicht aus (REGAMEY in: Handbuch der Schutzimpfungen).

Nach den Untersuchungen von PATEL (1961), TASMAN (1959) und HÜRTNER (1925; bei TASMAN) läßt sich nach überstandener manifester Infektion keine nennenswerte aktive Immunität nachweisen. Es ist anzunehmen, daß eine außerordentlich geringe Menge des hochtoxischen Tetanospasmins ausreicht, um die synaptischen Hemmvorgänge im Regelsystem der Motorik aufzuheben, so daß es zu den bekannten Krankheitserscheinungen kommt, diese jedoch als antigenere Stimulus bei weitem zu klein sind.

Über die Wirkungsweise des Toxins besteht noch keine endgültige Klarheit. Nach zahlreichen Untersuchungen von VAN HEYNINGEN und seiner Arbeitsgruppe (1952, 1959, 1961, 1963) sowie seinen Referaten in ECKMANN (1966) sowie SCIENTIFIC AMERICAN (1969) scheint die Bindung im molekularen Bereich auf einer Bindung an die Neuraminsäure der Ganglioside im Zentralnervensystem zu beruhen. Diese Bindungsfähigkeit an die Ganglioside ist unterschiedlich stark und abhängig von der Stellung der Neuraminsäure im gesamten Molekül. So wird das Toxin am stärksten da gebunden, wo zwei Neuraminsäurereste hintereinander an die mittelständige Galaktose des Gangliosidmoleküls gebunden sind. Hingegen ist die Bindung nur unbedeutend an den endständigen, an Galaktose gebundenen Neuraminsäuregruppen (Abb. 1). Wird andererseits die Neuraminsäure aus dem Gangliosidmolekül entfernt, wird auch Toxin nicht mehr gebunden.

Daher besteht als einzige Möglichkeit, einen wirksamen Dauer- oder zumindest "Grundschutz" zu erhalten, die Zuführung einer ausreichend antigen wirksamen Menge eines durch Synthese oder Kulturen gewonnenen und denaturierten, d. h. entgifteten Toxoids. Das hierfür in Deutschland allgemein verwandte Tetanol^R der Behring-Werke Marburg/Lahn ist ein an $\text{Al}(\text{OH})_3$ adsorbiertes, mit Formalin inaktiviertes Toxoid in einer Konzentration von mindestens 150 IE/ml Impfstoff.

	STRUCTURE	RELATIVE ABUNDANCE	TOXIN BOUND
I	FATTY ACID		
	SPHINGOSINE		
	GLUCOSE		
	GALACTOSE — SIALIC ACID	.85	3
	GALACTOSAMINE		
	GALACTOSE		
II	FATTY ACID		
	SPHINGOSINE		
	GLUCOSE		
	GALACTOSE — SIALIC ACID	1	3
	GALACTOSAMINE		
	GALACTOSE — SIALIC ACID		
III	FATTY ACID		
	SPHINGOSINE		
	GLUCOSE		
	GALACTOSE — SIALIC ACID — SIALIC ACID	.65	20
	GALACTOSAMINE		
	GALACTOSE		
IV	FATTY ACID		
	SPHINGOSINE		
	GLUCOSE		
	GALACTOSE — SIALIC ACID — SIALIC ACID	.55	20
	GALACTOSAMINE		
	GALACTOSE — SIALIC ACID		
TAY- SACHS	FATTY ACID		
	SPHINGOSINE		
	GLUCOSE		
	GALACTOSE — SIALIC ACID	.08	0
	GALACTOSAMINE		

(aus: Scientific American, 1969)

3 Das Toxoid - seine Gewinnung - sein A/B-Substanzgehalt

Die Forderung nach einer möglichst weitgehenden Durchimpfung der gesamten Bevölkerung wirft die Frage nach der Verträglichkeit des Impfstoffes auf sowie nach immunologischen Nebeneffekten, die natürlich unerwünscht sind: "Begleitimmunisierungen" durch Stoffwechsel- oder Zerfallprodukte der Bazillen selbst, aber auch durch nicht vollständig eliminierbare Begleitstoffe aus den Nährböden.

REGAMEY (1955) gibt eine umfangreiche Liste von Nebenwirkungen und ihren Ursachen an: teils durch technische Fehler bei der Herstellung (Sporen im Impfstoff), teils durch ungenügende Entgiftung durch Formalin, lokale entzündliche Prozesse vor allem durch albuminähnliche Stoffe, selbst bei hochgereinigten Impfstoffen. Die Häufigkeit dieser Nebenwirkungen geben SCHÖBER et al. (1957) mit etwa 50% aller Immunisierungen an.

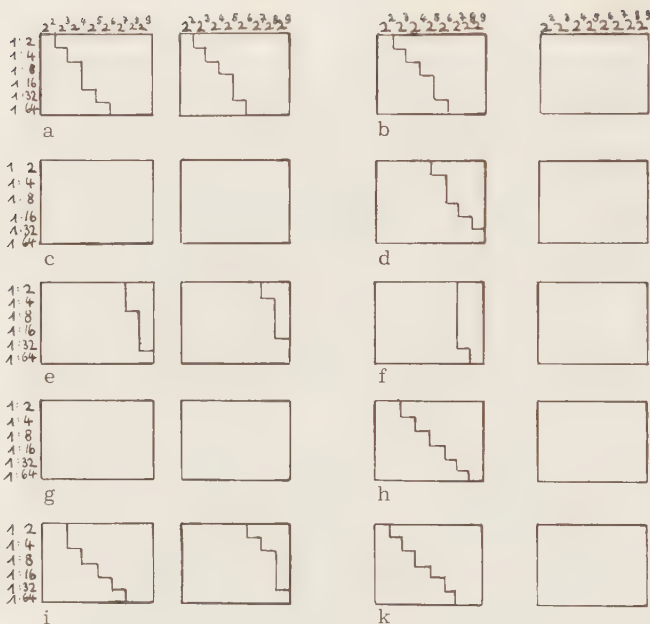
Nach Untersuchungen von GOLD und BACHERS (1943) ist das Protoplasma von *C. tetani* selbst nicht allergisierend wirksam, und auch das Anatoxin hat nach RAMON (1950) keine solche Eigenschaft. SCHEIBEL (1955) hat nachgewiesen, daß Zwischenfälle bei der Impfung nur durch die o. a. Allergene in der Nährlösung hervorgerufen sein können.

Von besonderer Bedeutung sind die Arbeiten von OTTENSOOSER (1932) und HÄSSIG et al. (1955), in denen es den Autoren gelang, Blutgruppensubstanzen im Nährboden bzw. in der Toxoidsuspension selbst nachzuweisen.

Angesichts dieser Befunde hat es daher nicht an zahlreichen Versuchen gefehlt, bei einem Maximum an Toxinausbeute ein Minimum an allergisierenden Substanzen durch Modifikation der Nährböden zu erhalten: "Das Milieu muß die für die Toxigenese notwendigen Elemente enthalten: peptidische Verbindungen, Aminosäuren, Vitamine und Spurenelemente. Die Lebensbedürfnisse von Cl. tetani sind so komplex, daß noch heute bei der Toxinproduktion auf synthetische Nährböden verzichtet werden muß, selbst wenn diese vermutlich den Vorteil böten, dem Impfstoff jede Fremdsubstanz fernzuhalten." (REGAMEY, 1955). So werden die Kulturen auf Leberbouillon nach TAROZZI oder Thioglykolat-Nährböden gezogen (HANSEN, 1966). Die Reinigung des Toxins von unerwünschten Beimengungen erfolgt durch Ultrafiltration bei schwach negativem Druck; hierdurch wird die Abscheidung von Salzen, Aminosäuren, Peptiden u.ä. möglich. Die Entgiftung (Toxoidierung) erfolgt durch einen Formolzusatz, in der Regel bis 3‰, in der BRD zulässig bis 12,5‰. Hierdurch erfolgt eine Polymerisation des Toxins, das jetzt auch von einer instabilen Form in eine stabile übergeht. Auch die Aminosäure-Sequenz wird verändert: Tyrosin verschwindet, und das Verhältnis der anderen Aminosäuren zueinander verändert sich (SORU et al. 1958). Schließlich wird das Toxoid an $\text{Al}(\text{OH})_3$ adsorbiert, um zum einen eine langsamere Resorption vom Injektionsort (Depoteffekt) zu erreichen und damit einen länger andauernden antigenen Stimulus, zum anderen zeigt der $\text{Al}(\text{OH})_3$ -Toxoid-Komplex an sich schon einen größeren antigenen Effekt als die nicht adsorbierten Impfstoffe.

Bedingt durch die Züchtungsmethoden - TAROZZI-Bouillon wird aus Leberparenchym bereitet, der Thioglykolat-Nährboden der

Merck-AG Darmstadt enthält Trypsin-verdautes Pepton - war mit einem mehr oder weniger hohen Gehalt an Blutgruppensubstanzen zu rechnen. Deshalb hat das NIH (National Institute of Public Health) 1952 Richtlinien für das Tetanus-Toxoid herausgegeben, in denen unter anderem gefordert wird, daß der Gehalt an A-Substanz nicht größer als 0,004 mg/ml Impfstoff, derjenige an B-Substanz nicht größer als 0,08 mg/ml sein darf. Der Behring-Kodex von 1964 gibt im Tetanol-Abschnitt (S. 246 f.) an: "Tetanol ist vollständig entgiftet und enthält kein tierisches Eiweiß, daher sind Nebenwirkungen nach der Impfung außerordentlich selten." Daß antigen wirksame Blutgruppensubstanz-Mengen jedoch zumindest noch 1952 enthalten waren, haben die 1952 durchgeführten und 1955 veröffentlichten Untersuchungen von HÄSSIG et al. bestätigt. Sein Team hat im Tetanustoxoid (wie auch in verschiedenen anderen gleichzeitig untersuchten Stoffen) mittels der Hämagglutinationshemmungsmethode Blutgruppensubstanzen nachweisen können (Abb. 2). Das Team führte weiterhin aktive Immunisierungen an Rekruten durch und bestimmte die Iso-Agglutinititer sowie die Häufigkeit der Hämolysine. Dabei fanden sich deutliche Steigerungen besonders des Anti-A (Tab. 1). Die Beta-Agglutinine der Blutgruppe A reagierten durchweg nicht so ausgeprägt. Die Hämolysine zeigten eine signifikante Zunahme (Tab. 1). Der Frage, ob sich hinter dieser Titersteigerung inkomplette Immun-Agglutinine verbargen, oder ob es sich lediglich um eine Steigerung der kompletten Iso-Agglutinine handelte, wurde nicht weiter nachgegangen. Man nahm an, daß bei einem Neuauftreten von Hämolysinen auch gleichzeitig Immun-Agglutinine gebildet würden, also zumindest in diesen Fällen mit solchen zu rechnen sei. Hier wäre eine Untersuchung auf Immun-Antikörper im ABO-System, etwa mit dem von FISCHER 1959 inaugurierten AB-Gamma-Test, aufschlußreich gewesen.



- | | | | |
|---|--|---|--|
| a | A_1 B-Sekretorenspeichel | b | Diphterieanatoxin |
| c | A_1 B-Sekretorenspeichel | d | Tetanusanatoxin |
| e | A_1 B-Sekretorens Serum | f | Tetanus-Pferdeserum
(mit A_1 B-Erythrozyten absorbiert) |
| g | A_1 B-Nicht-Sekretoren-
serum | h | Tetanus-Pferdeserum
(gereinigt, eiweißarm) |
| i | AB-Substanz gelöst
(Sharp u. Dahme) | k | Magenextraktpräparat |

Es wurden abgestufte Antigenmengen mit einer konstanten Menge O-(Anti A + B-)Serum vermischt. Das Gemisch wurde gegen A_1 - und B-Erythrocyten austitriert. Die Antigenverdünnungen wurden auf der Ordinate, die Titerwerte auf der Abszisse aufgetragen. Die weiße Fläche jedes Rechtecks dient als Maß für den Antigengehalt der einzelnen Substanzen. Das native Tetanuspferdeserum mußte wegen seines Gehaltes an Heteroagglutininen gegen menschliche Erythrocyten vor der Auswertung mit den doppelten Volumen A_1 B-Erythrocyten abgessätigt werden. (nach: HÄSSIG, 1955)

ABBILDUNG 2

		Isoagglutination			Isohämolyse									
		A ₁	A ₂	B	A ₁			A ₂			B			
Gesamt- zahl														
	90		1	1	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1
O	38	a	1:43	1:20	1:35	6	16%	1:3	5	13%	1:3	4	10%	1:3
		b	1:165	1:118	1:65	32	84%	1:17	24	63%	1:7	11	29%	1:4
B	13	a	1:47	1:23		1	7%	1:3	1	7%	1:3			
		b	1:192	1:123		8	62%	1:8	3	23%	1:6			
A	39	a			1:40							-	-	-
		b			1:87							2	5%	1:6

1. Impfung: 1 cm³ Tetanusanatoxin intramuskulär.
 2. Impfung (nach 36 Tagen): 2 cm³ Tetanusanatoxin intramuskulär.
 3. Impfung (nach 57 Tagen): 2 cm³ Tetanusanatoxin intramuskulär.
 - a) Serologische Befunde unmittelbar vor der 1. Impfung.
 - b) Serologische Befunde am 67. Tag, 10 Tage nach der 3. Impfung.
- 1 = mittlere Titerwerte.
2 = Anzahl Rekruten mit Isohämolysinen im Serum.
3 = Prozentsatz der Rekruten mit Isohämolysinen im Serum.
(aus: HÄSSIG et al., 1955)

TABELLE 1

4 Klinische Aspekte der Untersuchung: Die Tetanus-Schutzimpfung und das Problem des ABO-bedingten Morbus haemolyticus neonatorum

Angesichts der inzwischen verfeinerten Züchtungs- und Reinigungsmethoden der Bakterien bzw. ihres Toxins war es Aufgabe der vorliegenden Arbeit, erneut das Verhalten der Iso-Agglutinintiter zu untersuchen und gleichzeitig der Frage eines Neuauftretens von Hämolsynen bei den Immunisierten und dem Zusammenhang mit dem Auftreten von Tetanus-Antikörpern nachzugehen.

Die klinische Bedeutung dieser Fragestellung liegt auf der Hand: HÄSSIG hat in seiner bereits mehrfach erwähnten Arbeit auf das Problem des "gefährlichen Universalspenders" hingewiesen, der durch aktive Schutzimpfung oder andere immunologische Stimulanzien Immun-Agglutinine mit erhöhtem Titer oder gar Hämolsyne gebildet hat. Gleich bedeutsam ist das Problem im Zusammenhang mit der ABO-Inkompatibilität bei Schwangerschaften, zumal HARMSEN (1968) gefordert hat, solange eine aktive Tetanusschutzimpfung gesetzlich nicht geregelt sei, im Rahmen der Schwangeren-Vorsorge doch zumindest die Frau zu immunisieren und damit auch gleichzeitig den Säugling zu schützen.

Dem muß jedoch entgegengehalten werden, daß nach den Untersuchungen von JUNGWIRTH (1955) eine enge Beziehung besteht zwischen dem Agglutinintiter der Mutter und dem des Kindes. Eine gleich enge Korrelation fand er auch bei den ABO-Hämolsynen. Bei 10 seiner Fälle mit Hämolsynen fand sich ein Immun-Anti-A, und bei 8 dieser Fälle traten die Hämolsyne ins Nabelschnurblut

über. Bei vier von diesen 8 Fällen waren die Hämolysintiter bei Mutter und Kind gleich. Nur bei zwei Fällen (beides nur schwache Hämolysine) waren diese nicht im kindlichen Serum nachweisbar. Bei weiteren 7 Fällen ohne mütterliche Immun-Antikörper, aber mit ähnlichen Hämolysin-Titern wie die ersten 10 Fälle, waren bei 5 der 7 Kinder keine Hämolysine und bei den restlichen beiden nur sehr schwache Hämolysine nachzuweisen. Mütterliche Alpha-Agglutinine traten vermehrt in den kindlichen Kreislauf über, wenn das mütterliche Serum Immun-Antikörper enthielt. Die in diesen Fällen nachweisbaren kindlichen Antikörpertiter betrugen $1/4$ bis $1/32$ des jeweiligen mütterlichen Titors. Von 7 anderen Fällen ohne Immun-Antikörper bei der Mutter betrug der kindliche Agglutinititer in 4 Fällen nur $1/1000$ des mütterlichen Titors. Weiter hat JUNGWIRTH in dieser Arbeit das Verhalten von Iso-Agglutininen bei heterospezifischen Schwangerschaften untersucht. Bei keinem seiner 9 Fälle waren erhöhte Titer oder Hämolysine im Nabelschnurblut nachzuweisen.

Nach den Untersuchungen von FISCHER, K. (1966) ist jedoch nicht allein die Höhe der Antikörper- oder Hämolysintiter der Mutter für die ABO-Unverträglichkeit wichtig: "... die natürlicherweise entstandenen Gamma-G-Antikörper reichen anscheinend nicht aus, eine hämolytische Neugeborenenenerkrankung zu verursachen. Es bedarf einer zusätzlichen Antigen-Zufuhr. Da die Mutter aber schon physiologischerweise "ansensibilisiert" ist, so führen bereits kleine Mengen A- oder B-Antigen zu einer wesentlichen Gamma-G-Antikörperbildung ("Immun-Antikörper"). Daher erkrankt häufig schon das erste Kind, wenn während der Gravidität Blutgruppen-Antigen - vielleicht in gelöster Form - in den mütterlichen Orga-

nismus gelangt. Auch manche Impfstoffe, Hormonpräparate und Organextrakte enthalten A-Antigen und sollten bei der Möglichkeit einer heterospezifischen Schwangerschaft nur streng indiziert verabfolgt werden...".

Es ist jedoch auffällig, daß schwere intrauterine Schäden oder Fruchttod außerordentlich selten sind, Frühgeborene nur selten erkranken, und daß der direkte COOMBS-Test nur bei 10 % der ABO-Konstellationen positiv ist (FISCHER, K. 1966). Es ist daher anzunehmen, daß die von der Mutter gebildeten und placentaängigen ABO-Immun-Globuline schon bei der Mutter, aber auch im Feten von im Plasma gelösten oder an Gewebszellen gebundenen extraerythrozytären A- oder B-Rezeptoren gebunden werden.

Ein weiterer "Schutzmechanismus" des Feten ist darin zu suchen, daß die A- oder B-Rezeptoren der kindlichen Erythrozyten unterschiedlich schnell ausreifen. So findet sich z. B. bei den Neugeborenen der Blutgruppe A₂ und bei Frühgeborenen nur außerordentlich selten der ABO-Morbus hämolyticus neonatorum, selbst dann, wenn bei den Müttern vorher der AB-Gamma-Test positiv war (SCHELLONG, 1964).

Trotzdem schien es angesichts der engen Korrelation zwischen Immun-Agglutinintitern und Hämolsinen der Mutter und denen des Kindes sowie in Hinblick auf die Vermeidung einer weiteren "Hochimmunisierung" von Frauen der Blutgruppe O und zur Verbesserung der Prophylaxe des ABO-Morbus hämolyticus neonatorum interessant, die Wirkung des Tetanol auf Hämolsine und Iso-Agglutinine noch einmal nachzuprüfen.

B

I Methodik

1 Die Auswahl der Versuchs- und Kontrollgruppe
und die Wahl des Untersuchungszeitpunktes

Da nach JUNGWIRTH (1955) Hämolysinhäufigkeit und Agglutinin-titer bei Männern und Frauen annähernd gleich sind, mußte nicht unbedingt Einheitlichkeit in dieser Beziehung gefordert werden. So bestand die Versuchsgruppe aus einem Soldatenkollektiv der Bundeswehr, an dem während der Grundausbildung routinemäßig die aktive Tetanus-Immunisierung durchgeführt wird. Das Durchschnittsalter der Probanden betrug 21 Jahre; keiner war während des Untersuchungszeitraumes krank oder hatte früher an Blut-, Stoffwechsel- oder anderen bedeutenderen Erkrankungen gelitten.

Anzahl der Probanden:	79	
Blutgruppenverteilung:	A	44
	B	3
	O	32

Die Kontrollgruppe wurde aus Spendern des Blutspendedienstes Göttingen rekrutiert.

Anzahl der Probanden:	68	
Blutgruppenverteilung	A	32
	B	10
	O	26

Zusammensetzung: Frauen und Männer zu gleichen Teilen.
 Durchschnittsalter der Kontrollgruppe: etwa 40 Jahre.
 Es wurde so niedrig wie möglich gehalten, um Schwankungen der
 Iso-Agglutinintiter mit dem Alter weitestgehend auszuschalten
 (FURUHATA u. EGUCHI 1955 u. 1957).

Auch die Probanden dieser Gruppe wiesen keine wesentlichen Vor-
 erkrankungen sowie Erkrankungen während der Durchführung des
 Versuches auf.

Der Versuchszeitpunkt wurde bewußt in die Monate Juli/August/
 September gelegt, weil nach den Untersuchungen von SCHIFF (1959)
 in diesen Monaten der stärkste immunisatorische Effekt zu erhof-
 fen war.

2 Die Durchführung des Versuches

Bei der Versuchsgruppe wurden unmittelbar vor der ersten Impfung,
 vor der zweiten Impfung genau vier Wochen später und noch einmal
 nach weiteren vier Wochen je 5 ml Blut abgenommen. Aus techni-
 schen Gründen war nicht zu garantieren, daß die Probanden nüch-
 tern waren. Die Abnahmen bei der Kontrollgruppe wurden zeitlich
 so eng gekoppelt wie nur irgend möglich, um einerseits verschiede-
 nartige Witterungseinflüsse auszuschalten (WELCKER 1945,
 JAME u. JUDE 1936, v. d. ESCHÉ 1939), andererseits aber auch
 jahreszeitlich bedingte Schwankungen möglichst klein zu halten
 (WELCKER, 1945).

3 Die Gewinnung und Aufarbeitung der Seren, ihre Aufbewahrung bis zur Untersuchung

Die Seren wurden an dem der Abnahme folgenden Tag - nach etwa 12 Stunden Lagerzeit - vom Blutkuchen getrennt, danach auf Hämolyse untersucht. Bis zum Datum der Untersuchung auf die Höhe der Iso-Agglutinititer wurden die Seren bei -25°C tiefgefroren, um Titerveränderungen durch Alterung zu vermeiden.

4 Die Methodik der Hämolsinbestimmung

PROKOP (1953) hat nachgewiesen, daß das Auftreten von Hämolsinen nicht nur als ein qualitatives, sondern auch als ein "zeitquantitatives" Phänomen aufgefaßt werden kann. Aus der bei PROKOP und UHLENBRUCK (1965) veröffentlichten Tabelle über den Zeitfaktor und seine Beziehung zu Agglutination und Hämolyse läßt sich entnehmen, daß bei Zimmertemperatur nach einer Reaktionszeit von 30 Minuten bis zu einem Ablauf von 24 Stunden keine wesentliche Änderung der Agglutinationsstärke und auch kein Auftreten von weiteren Hämolsinen zu erwarten ist (Tab. 2).

Diese Tatsache berechtigte dazu, nach 30 min. Reaktionszeit und Zimmertemperatur die Proben auf Hämolsine hin abzulesen. Als Testerythrozyten wurde eine 2%ige Suspension in physiologischer Kochsalzlösung von dreifach gewaschenen, aus mehreren verschiedenen Proben stammenden, maximal zwei Tage alten Rh-negativen Blutkörperchen verwandt. Diese Mischpopulation wurde ausgewählt,

Reaktionszeit	2		4		8		16		Titer			128	256	Kontrolle
									32	64				
5 Minuten	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	(+)	-	-	-	-	-	-
10 Minuten	++	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	-
15 Minuten	(H)+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-
20 Minuten	H (+)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	(±)	-	-	-	-
30 Minuten	H (±)	(H)++	(H)++	(H)++	(H)++	(H)++	++	++	+	+	-	-	-	-
60 Minuten	H (±)	(H)++	(H)++	(H)++	(H)++	(H)++	++	++	+	+	-	-	-	-
nach zartem Auf-														
schütteln 2 Std.	H	H+	H+	H+	H+	H+	++	++	++	+	+	+	+	-
4 Stunden	H	H+	H+	H+	H+	H+	++	++	++	+	+	+	+	-
12 Stunden	H	H	H	H	H	H	++	++	++	++	+	+	+	-
nach zartem Wie-														
deraufschütteln														
24 Stunden	H	H	H	(H)++	(H)++	(H)++	++	++	++	++	+	+	+	-
48 Stunden	H	H	H	H+	H+	H+	++	++	++	++	+	+	+	-
96 Stunden nach														
Wiederaufschüt-														
teln														
120 Stunden	H	H	H	H	H	H	++	++	++	++	+	+	+	-
	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H(+)	(H)+	+	+	+

H = Hämolysen

(H) = angedeutete Hämolysen

++, + = Agglutinationsstärke

Zeitfaktor und seine Beziehung zur Agglutination und Hämolysen, dargestellt an einem B-(Alpha-)Serum (nicht inaktiviert), das gegen A₁-Blutkörperchen nach der Röhrchenmethode (NaCl-Lösung) ausstitriert wurde (Zimmertemperatur; 10 Monate nach Immunisierung mit A-Substanz von MORGAN) (nach PROKOP 1953) (aus: PROKOP u. UHLENBRUCK, 1965)

weil nach den Untersuchungen von SCHIFF u. MENDLOWICZ (1926) verschiedene Testerythrozyten ein und demselben Serum gegenüber eine unterschiedliche Avidität aufweisen können. Außerdem besteht nach WELCKER (1945) eine unterschiedliche Reaktionsstärke gleichnamiger Agglutinine verschiedener Seren gegen die gleichen Erythrozyten. Auch deshalb wurde eine aus mehreren Blutproben hergestellte Suspension verwandt. Getestet wurde die Blutgruppe O mit A_1 -, die Gruppe A mit B-, die Gruppe B mit A_1 -Erythrozyten.

Auf eine Bestimmung der Anti-B-Agglutinintiter der Blutgruppe O wurde verzichtet, weil nach anderen Untersuchungen (HÄSSIG et al. 1955) ein Anstieg der Alpha-Agglutinine auch immer mit einem, weniger deutlichen, Anstieg der Beta-Agglutinine verbunden war.

5 Die Methodik der Agglutinintiterbestimmung

Die meisten erythrozytären Antikörper reagieren nicht einfach im salinen Milieu mit den Erythrozyten. Neben dem Rinder-Albuminzusatz ist die Enzymbehandlung ein viel gebrauchtes Verfahren zum Nachweis inkompletter Antikörper. Ein solcher Antikörper ist nicht prinzipiell anders strukturiert. Er besetzt das Antigen genauso wie ein kompletter. Im Grunde muß das Antigen "komplettiert" werden, damit der primär nur inkomplett wirkende Antikörper zum gewohnten Bild der Agglutination führen kann (GALLASCH 1970).

Von den für den praktischen Gebrauch zur Verfügung stehenden Enzymen zur "Komplettierung" sind das Papain, Bromelin, Pronase sowie Proteinase gut geeignet (WINTZER et al, 1970). Allen gemeinsam ist jedoch die Gefahr zu intensiver Enzymeinwirkungen, so daß zu viele scheinbare Antikörper gefunden werden.

Um diese Fehlermöglichkeit auszuschließen, haben wir auf ein von SCHMIDT (1950) und HUMMEL (1950) sowie HUMMEL und DOOSE (1952) veröffentlichtes Phänomen zurückgegriffen: SCHMIDT weist in seiner Arbeit "Über den Einfluß von Periston auf einige serologische Phänomene in vitro" darauf hin, daß Immun-Antikörper in Periston stärker als in physiologischer Kochsalzlösung agglutinieren. Das Periston entfalte, wie verschiedene andere kolloidale Systeme auch, z. B. Gelatine oder Gummi arabicum, eine supplementartige Wirkung.

Bei der Versuchsgruppe selbst wurde zudem noch von einer anderen Möglichkeit Gebrauch gemacht, die Immun-Antikörper direkt, mit dem von FISCHER und LURATI (1959) veröffentlichten AB-Gamma-Test, zu erfassen: Von 20 Probanden der Blutgruppe O und 10 der Blutgruppe A der Versuchsgruppe wurden die Seren der ersten und dritten Abnahme auf des Vorhandensein oder Neuauftreten von inkompletten Immun-Agglutininen untersucht.

Im übrigen wurden lediglich die Fälle beachtet, bei denen die Kollidon- und Wärmetiter diejenigen in physiologischer Kochsalzlösung und bei Zimmertemperatur um mehr als 2 Stufen überragten.

Für die Verwendung der Testerythrozyten gelten die gleichen Überlegungen wie bei der Hämolysinbestimmung. Von jedem Serum wur-

den 2 Titrationsreihen angesetzt: eine in physiologischer Kochsalzlösung, eine zweite in 2%igem Kollidon. Titriert wurde in "Blutgruppenröhrchen" von 7 cm Länge und 1,5 cm Durchmesser. In das erste Röhrchen wurden 2 Tropfen des unverdünnten Serums gegeben, in die Röhrchen bis zur Verdünnung 1:1024 je zwei Tropfen physiologischer Kochsalzlösung bzw. Kollidon vorgelegt. Nach Zugabe der in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten, 2%igen Erythrozytensuspension ergab sich also ein vier Tropfen umfassendes Reaktionsgemisch.

Beide Titrationen wurden mit der gleichen Pipette vorgenommen, um beim späteren Vergleich beider Werte den methodischen Fehler so klein wie möglich zu halten. Die Reaktionszeit betrug bei Zimmertemperatur 20 min. Danach wurde eine Ablesung und nochmalige 20minütige Inkubation bei 37° C vorgenommen. Die Ablesung erfolgte so, daß als Endtiter die letzte, mit dem unbewaffneten Auge noch eben erkennbare, Agglutination mit $+$ bewertet und als Endtiter angegeben wurde.

6 Die Bestimmung des TAT-Titers mit der Agar-Gel-Diffusionsmethode der Behring-Werke

Die Methode ist im Prinzip ein modifizierter Agar-Gel-Diffusionstest nach OUCHTERLONY (Beschreibung und Abbildungen im Anhang). Für die Durchführung des Tests stand als Antigen Toxoid mit 10 Lf/ml zur Verfügung, als Standardserum jedoch lediglich solches mit einem TAT-Gehalt von 10 IE/ml Serum. Daher wurden

Teile des Standardserums im Verhältnis 1:2 und 1:4 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, um auch Vergleichspräzipitate für 5 und 2,5 IE Antitoxin pro ml Serum zu erhalten. Weiterhin wurde entsprechend einem Vorschlag der Behring-Werke der Fertigar Cubogelahn^R nach der Verarbeitungsvorschrift verwandt.

Wir sind uns bei Anwendung dieser Methode jedoch der Tatsache bewußt gewesen, daß die Verdünnung eines natürlichen Proteingemisches (=Serums) mit physiologischer Kochsalzlösung einen schwerwiegenden Eingriff in ein solches kolloidales System darstellt. Zum Zeitpunkt der Untersuchung stand jedoch sicher tetanus-Antikörperfreies Serum für eine Verdünnung des Referenzserums nicht zur Verfügung. Für eine solch verhältnismäßig grobe Unterscheidung ist eine ausreichende Genauigkeit auch bei einer Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung zu erzielen. Die Photographien der Objektträger zeigen deutliche Präzipitatlinien bei den mit 10 IE/ml TAT-Serum beschickten Stanzlöchern; die Linien bei 5 IE/ml sind schon erheblich schwächer und die Banden bei 2,5 IE/ml sind praktisch nicht mehr zu erkennen.

II Auswertung

1 Die Ermittlung des Endtitors durch arithmetische Mittelung der Endtiter der vier Ablesungsreihen

Wie oben bei der Besprechung der Methodik bereits erwähnt, konnte kein sicherer Fall von auffallender Titersteigerung im 0,9%igen NaCl- oder Kollidon-Milieu allein oder in der Wärme allein nachgewiesen werden, was eventuell den Verdacht auf inkomplette Antikörper hätte lenken können. Die Titer lagen im Kollidon um eine Stufe, in seltenen Fällen um zwei Stufen höher. Das entspricht den von HUMMEL (1950) erhobenen Befunden. Deshalb konnte aus den vier Werten jeder Abnahme durch Bildung des arithmetischen Mittels ein Gesamtwert ermittelt werden, der sich mit den Werten der beiden anderen Abnahmen vergleichen ließ.

2 Die Ermittlung der Titterschwankungen zwischen den drei Abnahmen

Für die Beurteilung der Titerveränderung zwischen den Abnahmen, deren "Gesamttiter" nach dem oben genannten Verfahren ermittelt wurden, wurden die Werte der ersten und dritten Abnahme dieser Gesamttiter verwandt, weil hier die Veränderungen am deutlichsten zutage traten. Trotzdem muß an dieser Stelle erwähnt werden, daß bei 8 Fällen des gesamten untersuchten Kollektivs die Titer der zweiten Abnahme um 2 bis 4 Stufen höher lagen als bei der dritten

Abnahme. Auch hier wurden die Titer der ersten und dritten Abnahme mit zur Bewertung der Titterschwankungen herangezogen. Eine Deutung dieser Befunde soll unten versucht werden.

3 Kriterien für die Beurteilung der Titterschwankungen: Fehlerbreite der Methode

In den nach den o. a. Methoden ermittelten Titterschwankungen ist als "Störgröße" außerdem die Fehlerbreite der Methodik enthalten. Diese wurde folgendermaßen zu ermitteln versucht: Nach den Untersuchungen von HUMMEL (1950) war eine durch das Kollidon verursachte technisch-methodische konstante Titererhöhung um eine Stufe anzunehmen. Unter der oben bereits erwähnten Voraussetzung, daß bei unserer Untersuchung kein Anhalt für inkomplette Antikörper gegeben war, konnte aus den Titterschwankungen zwischen den Kochsalz- und Kollidon-Titrationsreihen durch arithmetische Mittelung eine "Durchschnittsschwankung" bestimmt werden: Für jedes Serum wurde der Titerunterschied zwischen der Kochsalz- und Kollidon-Titrationsreihe sowohl für die Kälte- als auch für die Wärmeablesung in Titerstufen ermittelt, und zwar getrennt für die Versuchs- und Kontrollgruppe und getrennt nach Blutgruppen. Die Titerveränderungen in Stufen wurden addiert, wobei auch gleichgebliebene Titer als Veränderung 0 mit eingingen, und aus ihnen durch arithmetische Mittelung für jede Blutgruppe der Versuchs- und Kontrollgruppe die durchschnittliche Titeränderung errechnet.

Die Titeränderungen betrugen:

Kontrollgruppe	Blutgruppe O	0,5	Stufen
- " -	- " - A	0,425	Stufen
Versuchsgruppe	Blutgruppe O	0,434	Stufen
- " -	- " - A	0,375	Stufen

Der maximale "Fehler der Methodik" betrug also 0,5 Titerstufen. Bei der relativ geringen Größe des Fehlers einerseits und da er bei allen Untersuchungen andererseits in gleicher Höhe zu erwarten war, wurde darauf verzichtet, die Titerveränderungen $< 0,5$ Stufen auszuklammern; es wurden alle nach Punkt 2 der Auswertung ermittelten Werte in die Auswertung mit einbezogen.

4 Statistische Methoden

Für die statistische Auswertung haben wir die mittleren Titer-Werte und Standardabweichungen berechnet.

Den statistischen Berechnungen zum Vergleich der Mittelwerte der Titer in den untersuchten Gruppen vor der ersten und nach der zweiten Impfung lag der T-Test (Student-Verteilung) zugrunde. Ge-rechnet wurde der T-Test mit einem Olivetti-Programm 101.

5 Die Beurteilung der Agar-Gel-Diffusionen

Wie bereits oben erwähnt, zeigen die Präzipitate faßbare Unterschiede zwischen 2,5, 5 und 10 IE TAT/ml Serum. Bei der Bewertung der Banden wurde nach Außenmaß entschieden, ob ein Präzipitat mehr der Zehner-, der Fünfer- oder der 2,5er-Testbande entsprach. Trotz der Subjektivität des Verfahrens wurde es für diesen Zweck als ausreichend genau erachtet.

III Ergebnisse

1 Das Verhalten von Iso-Agglutininen und Hämolsinen in den Kontrollgruppen

Die Blutgruppe O bestand aus 26 Probanden (Tab. 3). Gefragt wurde nach Hämolsinbildung und Titerveränderung. Neugebildet wurden zweimal Hämolsine. Die Tabelle zeigt, daß sich Titerveränderungen bei Hämolsinträgern, -bildnern und -nichtbildnern die Waage halten; ein zahlenmäßig deutlicher Titeranstieg oder -abfall ist nicht zu verzeichnen. Bei der statistischen Auswertung fand sich p mit 0,7 nicht signifikant.

Die Blutgruppe A bestand aus 32 Probanden (Tab. 4). Hämolsine wurden nicht gebildet. Hier zeigt sich mit 25 Titeranstiegen bei 4 Titerabfällen und 3 unveränderten Titern eine deutliche Tendenz zur Titersteigerung, die möglicherweise jahreszeitlich bedingt sein könnte. Trotzdem ist auch hier p mit $> 0,1$ statistisch nicht signifikant, da es sich zum überwiegenden Teil der Titerveränderungen (in 20 Fällen) um eine Stufe und weniger handelt, und diese Größe durchaus noch im Bereich der Fehlerbreite der verwandten Methodik liegt.

2 Das Verhalten von Iso-Agglutininen und Hämolsinen in der Versuchsgruppe unter Berücksichtigung von aktiver Vorimmunisierung

Die Anzahl der Probanden bei der Blutgruppe O betrug 32 (Tab 5a).

Blutbank

Blutgruppe O

Kontrollgruppe

Das Verhalten von Lysinen und Titerbewegungen bei Blutgruppe O

Gesamtzahl	26			
davon hatten Lysine	13	50 %	7	6
bildeten Lysine	2	7,7 %	1	1
bildeten keine Lysine	11	42,3 %	5	2
			↑	↓
			Prophylaxe -	
			13	9

TABELLE 3

Blutbank

Blutgruppe A

Kontrollgruppe

Das Verhalten von Lysinen und Titerbewegungen bei Blutgruppe A

Gesamtzahl	32		25	3	4
keine Lysine!			↑	↓	↓
			Prophylaxe -		

TABELLE 4

Die Hämolysinträger sind hier im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich verringert. Auffallend ist jedoch, daß hier 7 von 32, entsprechend 21,9 %, Hämolysine neu gebildet hatten. (Bei der Kontrollgruppe waren es 2 von 26, entsprechend 7,7 %.) Die Nichtlysinbildner waren in beiden Gruppen etwa gleich häufig vertreten.

Das Titerverhalten zeigte, daß bei allen 6 Hämolysinträgern eine Titer senkung aufgetreten war; ebenso fand sich eine Titer senkung bei 6 der 7 Hämolysinbildner. Von den 19 Nicht-Lysinbildnern reagierten 7 mit einem Titeranstieg, 9 mit einem Titerabfall und 3 zeigten unveränderte Titer.

Dieses Titerverhalten ist auffällig. Ob hierbei eine eventuell zu einem früheren Zeitpunkt erfolgte aktive Tetanus-Prophylaxe mit Tetanol eine Rolle spielt, wurde in Tab. 5b untersucht. Hierbei fiel in der Gruppe mit fehlender Prophylaxe eine Titersteigerung bei 6 Nicht-Lysinbildnern auf, während in der Gruppe mit stattgehabter Prophylaxe nur ein Titeranstieg bei den Nicht-Lysinbildnern zu verzeichnen war.

Betrachtet man die Gesamtzahl der Titerveränderungen unabhängig von der Prophylaxe, so ergibt sich folgendes Verhältnis:

Titerabfälle	21
Titeranstiege	8
Titer unverändert	3

Bei der statistischen Auswertung der Titer der gesamten Gruppe ohne Berücksichtigung von Hämolysinen und der Prophylaxe war

p mit $< 0,05$ signifikant. Auf die Deutung wird weiter unten eingegangen.

Die Blutgruppe A bestand aus 44 Probanden (Tab. 6). Hämolysine wurden nicht gebildet. Bei stattgehabter Prophylaxe verteilen sich Titeranstiege und Titerabfälle annähernd gleich. Auffallend war jedoch das Verhalten der Titer bei fehlender Prophylaxe: Hier fanden sich 25 Titerabfälle zu 18 Titeranstiegen bei einem unveränderten Titer. Wird wieder unabhängig von der Prophylaxe addiert, ergibt sich folgendes Verhältnis:

Titerabfälle	25
Titeranstiege	18
Titer unverändert	1

In der statistischen Auswertung ergab sich p mit $> 0,1$ nicht signifikant. Dies war auch zu erwarten, da die Titerveränderungen in 33 von 43 Fällen um eine Stufe und darunter lagen, d. h. noch im Bereich der Fehlerbreite der Methodik.

Auch zwischen den Titern der Probanden mit stattgehabter und denen mit fehlender Prophylaxe bestand kein signifikanter Unterschied. Für beide Gruppen war $p = 0,1$.

3 Die Höhe der Titerveränderung in Beziehung zur Hämolysinbildung bei der Blutgruppe O

Bei der Kontrollgruppe (Tab. 7) hatten sich eine Titersteigerung

bei 13 Probanden und ein -abfall bei 9 Probanden gefunden. Unter den 13 Probanden hatten sich 7 Hämolysinträger befunden sowie 5 Nicht-Lysinbildner. In der Gruppe der 9 Probanden mit Titerabfällen hatten sich 6 Hämolysinträger und zwei Nicht-Lysinbildner befunden. Auffallend ist nun, daß aus der Gruppe der Hämolysinträger 6 Probanden mit einer Titerveränderung von mehr als 1 Stufe reagierten, und zwar je 3 mit einem Titerabfall bzw. -anstieg. Hämolysinbildner und Nicht-Lysinbildner blieben mit ihren Titerveränderungen unter 1 Stufe.

Bei der Versuchsgruppe (Tab. 8a) hatte sich eine Titersteigerung bei 8, eine -senkung bei 21 Probanden gefunden. Unter den 8 Probanden befanden sich 7 Nicht-Lysinbildner, von denen 2 mit einer Steigerung von mehr als 1 Stufe reagierten. In der Gruppe der Titerabfälle waren 6 Hämolysinträger, 6 -bildner und 9 Nicht-Lysinbildner. In dieser Gruppe ist sehr auffällig, daß 5 der 6 Hämolysinträger mit einem Titerabfall von mehr als 1 Stufe reagierten; ähnlich bei den Hämolysinbildnern mit 4 von insgesamt 6 Probanden. Bei den Nicht-Lysinbildnern wiesen dagegen nur 2 von 9 Probanden eine Veränderung von mehr als 1 Stufe aus.

Bei der statistischen Auswertung ergab sich eine mit $p < 0,05$ signifikante Titersenkung bei den Hämolysinträgern der Versuchsgruppe gegenüber der Kontrollgruppe mit einem p-Wert von $> 0,1$. Bei den Nicht-Lysinbildnern ließ sich dagegen keine Signifikanz nachweisen, was auch den geringen Titerveränderungen entspräche. Außerdem wurden noch die Titer der Hämolysinbildner mit denen der Nicht-Lysinbildner in der Versuchsgruppe verglichen. Auch hier fand sich eine mit $p < 0,05$ signifikante Titersenkung bei den Hämolysinbildnern.

Blutbank

Blutgruppe O

Kontrollgruppe

Höhe der Titerveränderung in Beziehung zur Lysinbildung

	Lysin-Träger		Lysin-Bildner		Lysine ϕ	
	↑	↓	↑	↓	↑	↓
< 1 St.	4	3	1	1	5	1
> 1 St.	3	3				1

TABELLE 7

Bundeswehr

Blutgruppe O

Versuchsgruppe

Titerveränderung in Stufen in Korrelation zu Prophylaxe und Lysinbildung

L-Träger	L-Bildner	Lysine ϕ
↑	↓	↑
1	1	2
5	4	2

Σ 29

< 1 St.

> 1 St.

Prophylaxe +			Prophylaxe -		
L-Träger	L-Bildner	Lysine ϕ	L.-Träger	L-Bildner	Lysine ϕ
↑	↓	↑	↑	↓	↑
		↑		↑	↓
	1	4	1	1	5
		1			3
	1	1	5	3	1

Σ 29
+ 3

3 Probanden zeigten unveränderte Titer!

Σ 32

TABELLE 8a

TABELLE 8b

Interessant wäre hier eine Untersuchung der Rolle der schon erwähnten Prophylaxe beim Titerverhalten. Eine entsprechende Aufstellung gibt Tabelle 8b. Hier ist auffällig, daß in der Gruppe mit fehlender Prophylaxe 5 (von 6) Hämolysinträger und 3 (von 4) Hämolysimbildner mit einem Titerabfall von mehr als 1 Stufe reagierten. Bei der Signifikanzberechnung ergab sich für die Gruppe mit stattgehabter Prophylaxe ein p-Wert von $< 0,1$, also ein dem Signifikanzbereich näherliegender Wert. Hier wäre von Interesse, das Titerverhalten nach einer Boosterung nach Ablauf eines Jahres zu verfolgen; ob evtl. ein die Signifikanzgrenze überschreitendes Titerverhalten zu verzeichnen wäre.

Bei diesem Titerverhalten scheint sich anzudeuten, daß die Gruppe der Hämolysinträger bzw. -bildner rascher und ausgeprägter zu einer Titerveränderung neigt. Andererseits muß augenscheinlich die Neubildung von Hämolysinen nicht unbedingt mit einer Titersteigerung einhergehen, ja, es könnte sogar die Hämolysinsbildung eine "Ersatzfunktion" für eine Titersteigerung sein. Außerdem scheint das Vorhandensein von Hämolysinen nicht immer auch an hohe Iso-Agglutinin-Titer gebunden zu sein.

Allerdings ist das Zahlenmaterial für diese Schlußfolgerungen doch recht klein; es bedürfte einer Überprüfung an einem größeren Probandenkontingent.

4 Das Verhalten von Iso-Agglutinintitern und Hämolysinen in Abhängigkeit vom TAT-Titer

Der TAT-Titer war bei 19 der insgesamt 79 Probanden der Versuchsgruppe auf 5 IE/ml Serum und mehr angestiegen; 9 von diesen gehörten der Blutgruppe O an (28,1 %), 10 der Blutgruppe A (22,7 %).

Bei der Kontrollgruppe waren es lediglich 4 Probanden der Blutgruppe O (15,3 %) (siehe Tab. 9a und 9b).

Das Zahlenmaterial der Tabelle ist zu klein, um irgendwelche Folgerungen daran zu knüpfen; trotzdem wurde versuchsweise eine statistische Auswertung unternommen. Hier ergab sich, daß sowohl bei der Blutgruppe O wie auch bei der Blutgruppe A $p > 0,1$, also nicht signifikant war. Auch die Kontroll-Blutgruppe O war erwartungsgemäß mit $p > 0,1$ nicht signifikant.

Diese Befunde deuten darauf hin, daß die gefundenen Titerveränderungen eher als Ausdruck einer Reaktion auf ein immunologisches Geschehen angesehen werden müssen als unmittelbar durch die Tetanusschutzimpfung hervorgerufen.

Auch über das entsprechende Verhalten der Blutgruppe B läßt sich im Rahmen dieser Untersuchung keine sichere Aussage treffen, weil das Zahlenmaterial auch hier zu klein ist, um Schlußfolgerungen zuzulassen. Die Gruppe ließ sich trotz intensiver Bemühungen aus diensttechnischen Gründen nicht durch Hinzunahme mehrerer Soldaten aus anderen Einheiten auf die für die Beurteilung erforderliche Anzahl erweitern. Bei der dennoch versuchsweise unter-

Verhalten von Iso-Agglutininintern und Hämolytinen in Abhängigkeit vom TAT-Titer

I. Kontrollgruppe

Blutgruppe	Agglutinin- 1. Abn.	Titer 3. Abn.	Träger	Lysine Bildner	ϕ	TAT - Titer 1. Abn.	3. Abn.	Prophylaxe stattge- habt	Prophylaxe fehlend	Titer- Abfall	-Anstieg	$\leftrightarrow$
O d-	1:96	1:128			+	5 IE	2,5 IE		+		+	
O CE	1:48	1: 48			+	5	5		+			+
<u>LL</u> O D	1:56	1: 48	+			5	5		+	+		
<u>LL</u> O d	1:224	1:112	+			-	10		+	+		

$p = > 0,1$

TABELLE 9a

11. Versuchsgruppe

Blutgruppe	Agglutinin 1. Abn.	Titer 3. Abn.	Hämolsine		TAT-Titer		Prophylaxe statische- habt	Titer	
			Träger	Bildner	Ø	1. Abn.	3. Abn.	Abfall	Anstieg
O	1:160	1:128			+	-	5	+	
O	1:448	1:224			+	-	5	+	
O	1: 64	1:128			+	-	5	+	
O	1: 64	1:112			+	-	10	+	+
LO	1:320	1:256	+			-	10	+	
O	1: 80	1: 56			+	-	5	+	
LO	1: 96	1: 40		+		-	10	+	
O	1: 96	1: 56			+	-	10	+	
O	1: 96	1:192			+	-	10	+	
A	1: 48	1: 64			+	-	5	+	
A	1: 48	1: 32			+	-	5	+	
A	1: 24	1: 12			+	-	5	+	
A	1: 14	1:192			+	-	10	+	
A	1: 24	1: 10			+	-	10	+	
A	1: 40	1: 48			+	-	10	+	
A	1:128	1: 80			+	-	5	+	
A	1:128	1:112			+	-	5	+	
A	1: 64	1: 40			+	-	5	+	
A	1: 28	1: 64			+	-	10	+	

nommenen statistischen Auswertung ließ sich eine Signifikanz nicht erkennen; sowohl für die Versuchs- als auch für die Kontrollgruppe war der p-Wert $> 0,1$.

I Weitere Möglichkeiten der Titerbeeinflussung

1 Die Größe der methodisch bedingten Fehlerbreite

Die Größe der Fehlerbreite ist schwer abzuschätzen; es liegen auch keine Untersuchungen hierüber vor. Die Kriterien für die Entscheidung darüber, ob ein Hämolyisin vorhanden ist, sind bekannt, auch ohne daß eine Standardisierung in der Literatur angegeben ist: Auflösung oder zumindest erkennbare Verminderung der Testerythrozyten, klares, "lackfarben" getöntes Serum. In vielen Fällen war keine sichere Verringerung der Testerythrozyten zu erkennen, jedoch trat die typische klare Verfärbung des Serums deutlich hervor. Auch diese Fälle wurden als Hämolyisine eingestuft; sie traten vornehmlich da auf, wo im Verlauf der Immunisierung Hämolyisine erstmalig nachzuweisen waren.

Die Agglutininintiterbestimmungen wurden in der im Routinebetrieb des Blutspendedienstes verwandten Methode durchgeführt. Bei Verwendung gleicher Pipetten für die Titration der jeweils zusammengehörigen beiden Titrationsreihen und natürlich auch bei gleichbleibender Titrationstechnik ist der Fehlerquotient mit $< 0,5$ Stufen anzusetzen. Der Zweck der Titration in Kollidon und der Wärmeinkubation war, evtl. vorhandene inkomplette Immun-Antikörper mit zu erfassen. Es haben sich jedoch keine sicheren Anhalte für das Vorliegen von inkompletten Antikörpern ergeben, zumal in dieser Richtung noch zusätzlich bei 20 Probanden der Blutgruppe O

und 10 der Blutgruppe A mit dem AB-Gamma-Test nachgeforscht worden ist, ohne zu einem positiven Ergebnis zu kommen.

Da also Immun-Antikörper nicht nachzuweisen waren, konnte zur Verminderung des methodisch bedingten Fehlers aus allen vier Ablesungen das arithmetische Mittel gebildet werden. In dieses Mittel gingen dann auch die im Kollidon im Schnitt um 1 Stufe erhöhten Agglutinintiter ein. HUMMEL (1950) hat erstmalig darauf hingewiesen, daß die kompletten Antikörper im Kollidon bis zu einem um 1 Stufe höheren Titer agglutinieren als in physiologischer Kochsalzlösung.

2 Männlich-weibliche Heterogenität der beiden Gruppen

Die männlich-weibliche Heterogenität der beiden Gruppen bezüglich der ABO-Verteilung kann außer Acht gelassen werden; sie ist bei beiden Geschlechtern gleich. Lediglich bei den Hämolysinen besteht ein Unterschied insofern, als nach den Untersuchungen von JUNG-WIRTH (1955) zwar die Gesamthäufigkeit bei Männern und Frauen (auch Schwangeren) annähernd gleich ist, sich jedoch bei Schwangeren eine relative Häufung von sogenannten "C-Hämolysinen" (komplette Hämolysen innerhalb von 5 - 10 min bei Zimmertemperatur) finden läßt. Da sich unter der Kontrollgruppe jedoch keine Schwangeren befanden, kommt dieser Beobachtung hier keine Bedeutung zu.

3 Stressbedingte Titerschwankungen

WILDFÜHR (1945) hat in seiner Untersuchung über den Iso-Agglutininintiter des Menschen Titerabnahmen um mehrere Stufen nach Marschleistungen oder anderen Stressituationen beobachten können. Bei der vorliegenden Untersuchung ließen sich diese Beobachtungen zwar nicht bestätigen, es war andererseits aus technischen Gründen jedoch nicht möglich, vor allem vor der letzten Blutabnahme, bei der Versuchsgruppe einen solchen Stress zu verhindern; bis zu dem Tag der Abnahme befanden sich die Soldaten im Manöver, in dem auch einige größere Geländeübungen zu absolvieren waren. Es besteht daher durchaus die Möglichkeit, daß von hier aus eine unerwünschte Beeinflussung der Titer stattgefunden hat.

4 Wetterabhängigkeit der Iso-Agglutinine

WELCKER (1945) beschreibt eine deutliche Wetterabhängigkeit der Iso-Agglutininintiter. Besonders betroffen waren die Anti-B-, seltener die Anti-A-Agglutinine. Am auffälligsten waren diese Erscheinungen nach oder bei Gewittern oder an Schlußtagen von Schönwetterperioden. Ähnliche Befunde haben auch v. d. ESCHE (1935) und JAMES u. JUDE (1936) veröffentlicht. Um diese Einflüsse möglichst klein zu halten, wurde eine möglichst enge zeitliche Korrelation zwischen den Blutabnahmen von Versuchs- und Kontrollgruppe erstrebt.

5 Ernährungsbedingte Änderung der Iso-Agglutinintiter

Im Zusammenhang mit der Diskussion über die Frage nach der Entstehung der Iso-Antikörper ist auch die Frage nach ernährungsbedingten Beeinflussungen der Iso-Agglutinintiter aufgeworfen worden. Hierzu hat NEU (1953) festgestellt, daß bei Versuchspersonen nach Verabreichung von gereinigtem Schweinemagenmucin in Oblatenform per os ein Anstieg der Iso-Agglutinine, besonders des Anti-A, zu verzeichnen war. Ähnliche Befunde haben auch SPRINGER und seine Arbeitsgruppe (1959, 1962 u. 1965) veröffentlicht. Sie fanden bei keimfrei aufgezogenen Leghornhühnern und bei Säuglingen nach Verfütterung von E. Coli O₈₆ erhebliche Titeranstiege der Iso-Agglutinine.

Den Beweis für die Resorptionsmöglichkeit auch größerer Nahrungsbestandteile haben VOLKHEIMER und seine Schule erbracht (in: PROKOP u. UHLENBRUCK, 1965) und für dieses Phänomen den Begriff der "Persorption" geprägt. Es ist allerdings nicht sehr wahrscheinlich, daß auch bei der vorliegenden Untersuchung solche Einflüsse eine Rolle gespielt haben, denn so massiven Stimulantien, wie sie bei diesen Untersuchungen verwandt wurden, dürften die Probanden kaum ausgesetzt gewesen sein.

6 "Labile Iso-Agglutinintiter"

WILDFÜHR (1945) beschreibt in seiner Arbeit mehrere Fälle, bei denen er kurzzeitige Schwankungen der Iso-Agglutinintiter um zwei

und mehr Stufen feststellte, ohne einen Grund hierfür gefunden zu haben. Diese Veränderungen traten auch unabhängig von den jahreszeitlichen Schwankungen auf. Er nennt diese Fälle "labile Iso-Agglutinintiter". Die oben bereits erwähnten 8 Probanden, die bei der zweiten Abnahme einen um zwei bis vier Stufen höher liegenden Titer aufwiesen als bei der dritten Abnahme, sind möglicherweise zu diesen Fällen zu zählen.

7 Die Veränderung der Iso-Agglutinintiter mit dem Alter

Über die Veränderung der Iso-Agglutinintiter mit dem Alter wurde bereits an anderer Stelle gesprochen.

II Zur Deutung der gefundenen Phänomene

Eine Zusammenfassung der Tabellen 3 - 9 bringt Tabelle 10; Das Verhalten von Titersteigerungen und Hämolysinen in Abhängigkeit von aktiver Vorimmunisierung bei der Versuchs- und Kontrollgruppe (Zahlen in %).

Daß die Zahl der Hämolysinbildner in der Blutgruppe O der Versuchsgruppe um das 3,5-fache höher liegt als im Vergleichskollektiv, wurde schon erwähnt. Weiter läßt sich jedoch auch hier der Titerabfall bei Hämolysinträgern und -bildnern der Versuchsgruppe O, unabhängig von der Prophylaxe, erkennen. Die Nicht-Hämolysinbildner reagierten jedoch nur dann mit einem Titerabfall, wenn sie vorimmunisiert waren; die Nicht-Vorimmunisierten reagierten mit einem Titeranstieg.

Bei dem Vergleichskollektiv waren die Titerveränderungen annähernd hälftig verteilt - lediglich die Nicht-Hämolysinbildner zeigten einen Titeranstieg, der möglicherweise jahreszeitlich bedingt sein könnte.

Bei den Probanden der Blutgruppe A zeigten sich bei der Versuchsgruppe nach stattgehabter Prophylaxe die Titerveränderungen hälftig verteilt; in der Gruppe ohne Prophylaxe fand sich dagegen ein Titerabfall. Das Vergleichskollektiv zeigte einen deutlichen Titeranstieg.

In den Abb. 3, 4 und 5 wurde versucht, einer Anregung aus der Arbeit von SCHIFF u. MENDLOWICZ (1926) folgend, die Vertei-

Verhalten von Lysinen und Titerbewegungen in Abhängigkeit von aktiver Vorimmunisierung bei den Blutgruppen O und A der Versuchs- und Kontrollgruppe

(relative Zahlen %)		Prophylaxe -			Prophylaxe +		
		↑	↕	↓	↑	↕	↓
BW O	Gesamtzahl	32					
	davon hatten Lysine	6		100 %			
	bildeten Lysine	7	14,3 %	57,1 %			28,6 %
BB O	bildeten keine Lysine	19	31,6 %	21,1 %	5,3 %	5,3 %	26,3 %
	Gesamtzahl	26					
	davon hatten Lysine	13	53,8 %	46,1 %			
BB O	bildeten Lysine	2	50 %	50 %			
	bildeten keine Lysine	11	45,4 %	36,4 %			
BW A	Gesamtzahl	44					
			27,3 %	43,2 %	13,6 %		13,6 %
BB A	Gesamtzahl	32					
			78,1 %	12,5 %			
			9,4 %				

TABELLE 10

lung der Durchschnittstiter aus den Abnahmen 1 und 3 in einer Graphik darzustellen. Die Durchschnittstiter wurden hier in Titerstufen angegeben: $1:2 = 1$ Stufe, $1:4 = 2$ Stufen, $1:8 = 3$ Stufen usw. . Ergaben sich bei der arithmetischen Mittelung halbe Stufen, wurden sie mit in die Graphik aufgenommen; alle anderen Zwischenwerte wurden ab- bzw. aufgerundet. Auf der Abszisse sind die Titerstufen, auf der Ordinate die Anzahl der jeweiligen titrierten Serien angegeben.

Der Verlauf dieser "Kurven" verdeutlicht die Ergebnisse der Tabellen: Bei der Versuchsgruppe O findet sich auch hier eine deutliche Auffächerung der Kurve mit zwei neuen Gipfelbildungen 1 Stufe ober- bzw. unterhalb des alten Gipfelmaximums. Bei der Vergleichsgruppe findet sich zwar ähnliches Verhalten - annähernd hälftige Verteilung der Titerveränderungen - jedoch liegen die neuen Gipfel jeweils nur 0,5 Stufen vom alten Gipfel entfernt. Auch die Kurve der Versuchsgruppe A verdeutlicht die Tabellenwerte: Hier ist eine klare Gipfelverschiebung um 1 Stufe nach unten zu erkennen auf Kosten der bei der 1. Abnahme sich darstellenden Nebengipfel. Im Vergleichskollektiv dagegen ist der Titeranstieg zwischen den beiden Abnahmen an der "Gipfelverschiebung" eindeutig zu verfolgen.

Bei diesen "Kurvenverschiebungen" handelt es sich jedoch lediglich um eine halbe bzw. ganze Titerstufe - nicht mehr. Um daher ein klareres Bild von der Titerverteilung zu bekommen, wurden in einer zweiten, analog aufgebauten Graphik (Abb. 4) die Titerverteilungen der 1. Abnahme von Versuchs- und Kontrollgruppe gegenübergestellt - ebenso auch die der 3. Abnahme.

Graphischer Vergleich der Titerverteilung bei der I. und III. Abnahme
bei der Versuchs- und Kontrollgruppe

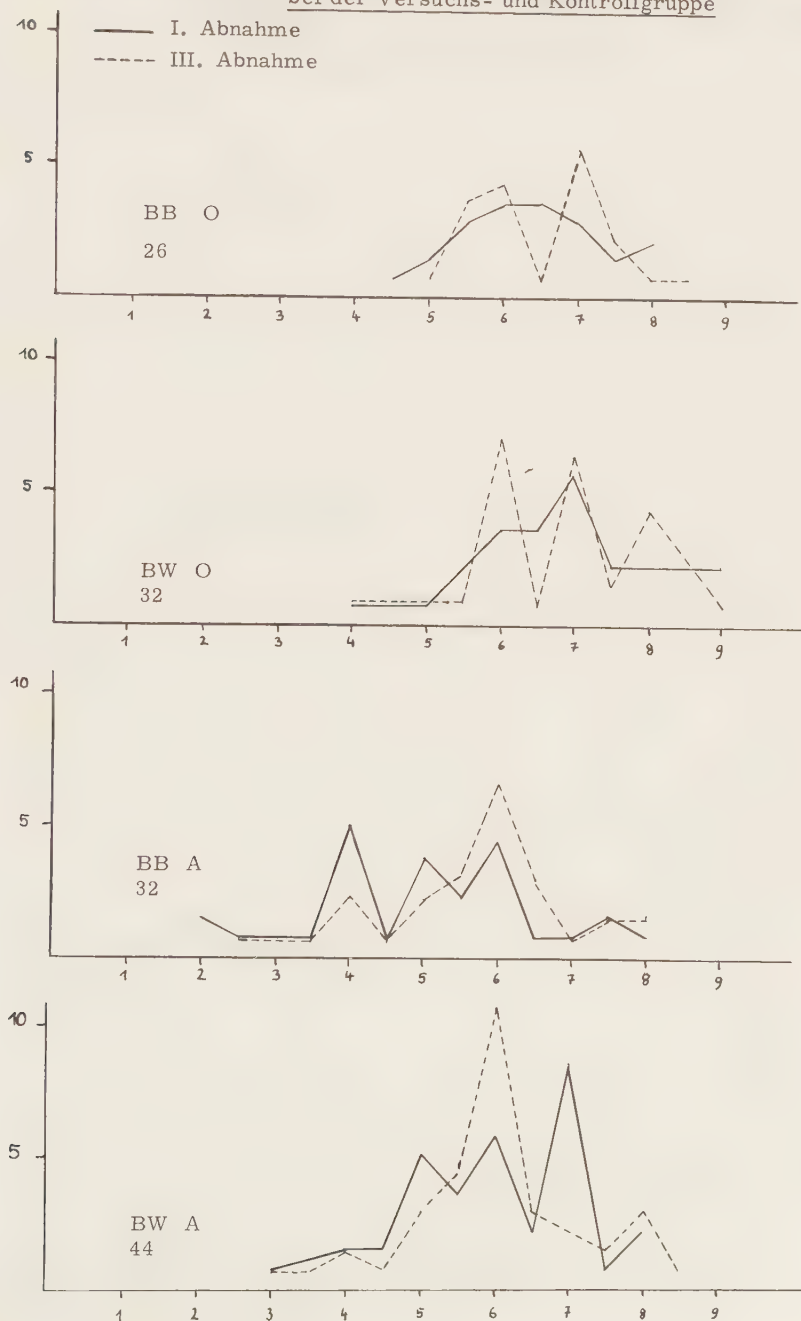


ABBILDUNG 3

Graphischer Vergleich der Titer-Verteilung zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe bei der I. und III. Abnahme

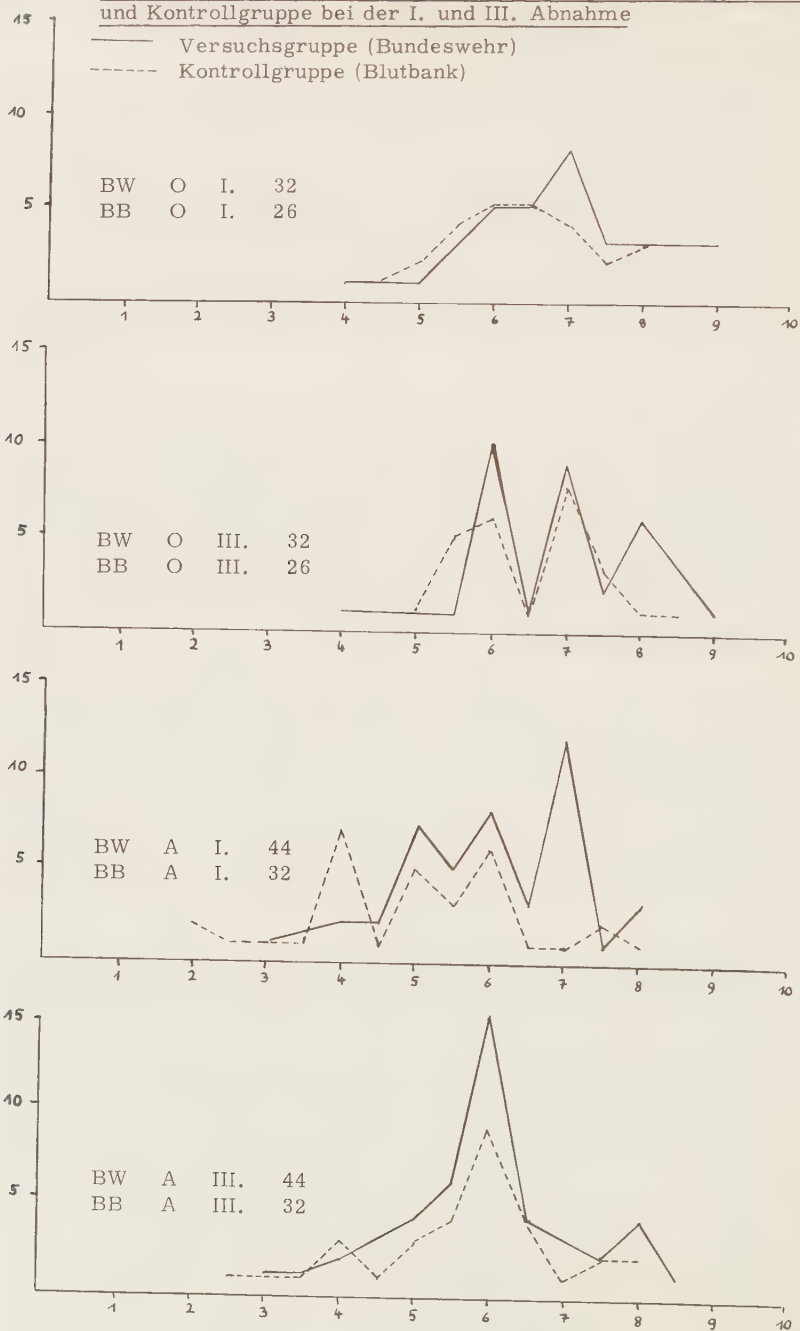


ABBILDUNG 4

Graphischer Vergleich der Titerverteilung bei der Versuchsgruppe O
(Lysinträger, -bildner, -nichtbildner) bei der I. und III. Abnahme

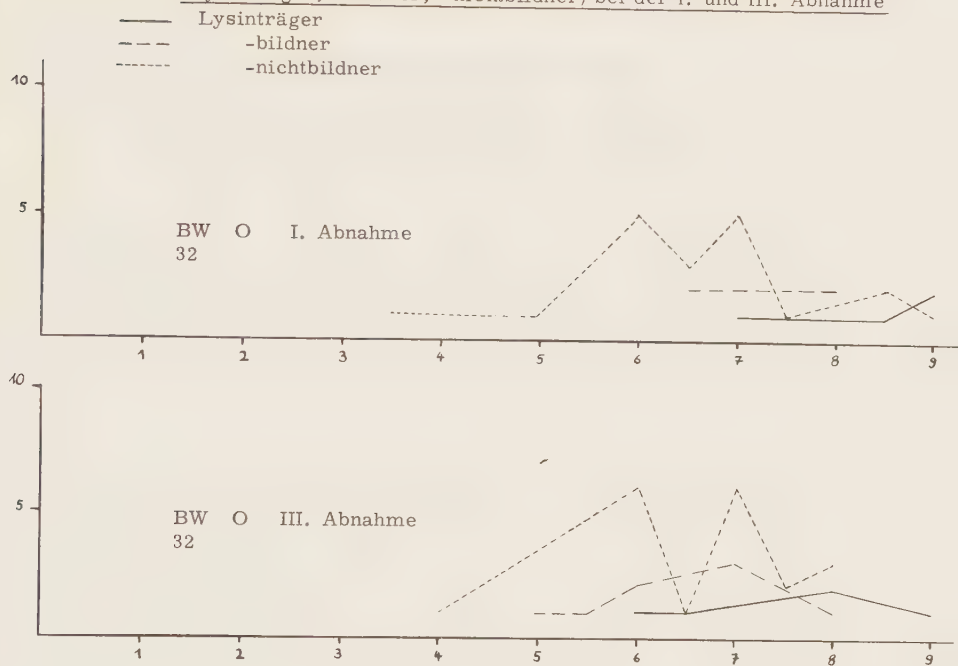


ABBILDUNG 5

Auch hierbei kommt in der 2. Graphik der Abb. 4 die Kurvenveränderung im Sinne einer Titerseinkung deutlich heraus, während die Kurven für die Blutgruppe A weitgehend kongruent verlaufen.

Daß die in den Graphiken so deutliche und statistisch signifikante Titerseinkung auf die Hämolysinträger und -bildner zurückzuführen ist, zeigt Abb. 5. Während die Kurven der Nichtlysinträger weitgehend kongruent verlaufen, haben sich die der Hämolysinträger und -bildner eindeutig zu den niedrigeren Titern hin verschoben.

Es fällt auf, daß die Hämolysinhäufigkeit bei den beiden O-Gruppen untereinander differiert, andererseits aber auch deutlich abweicht von den von GOLD (1961) erhobenen Befunden hinsichtlich der Häufigkeit von Hämolysinen bei einem nicht ausgewählten Probandengut (Tab. 11). Dieser fand bei der Blutgruppe A in 10,5 % der Fälle Hämolysine; bei unserem Untersuchungsgut war dagegen kein Hämolysin zu finden. Über die Blutgruppe B läßt sich, wie oben erwähnt, keine Aussage machen. Bei der Blutgruppe O fand GOLD in 40 % der Fälle Anti-A-Hämolysine, bei uns betrug die Häufigkeit 23,1 % Hämolysinträger im Versuchs- und 47,1 % im Kontrollgut.

Der Grund hierfür ist wahrscheinlich darin zu suchen, daß bei unserem kleinen Untersuchungsmaterial keine "Zufallsnivellierung" auftreten konnte gegenüber den von GOLD untersuchten erheblich größeren Zahlen.

Dieses statistisch signifikante Titerverhalten wirft die Frage nach seiner Ursache auf.

Hämolysinwirkung der Isoantikörper bei 600 Spendern aus Bristol
(nach GOLD 1961)

Gruppe	n	Hämolsine	komplette	starke	schwache	keine Hämolsine
A	200	Anti-B	12 (6)	6 (3)	3 (1,5)	179 (89,5)
B	200	Anti-A	46 (23)	8 (4)	4 (2)	142 (71)
O	200	Anti-B	18 (9)	8 (4)	7 (3,5)	167 (83,5)
		Anti-A	59 (29,5)	12 (6)	9 (4,5)	120 (60)

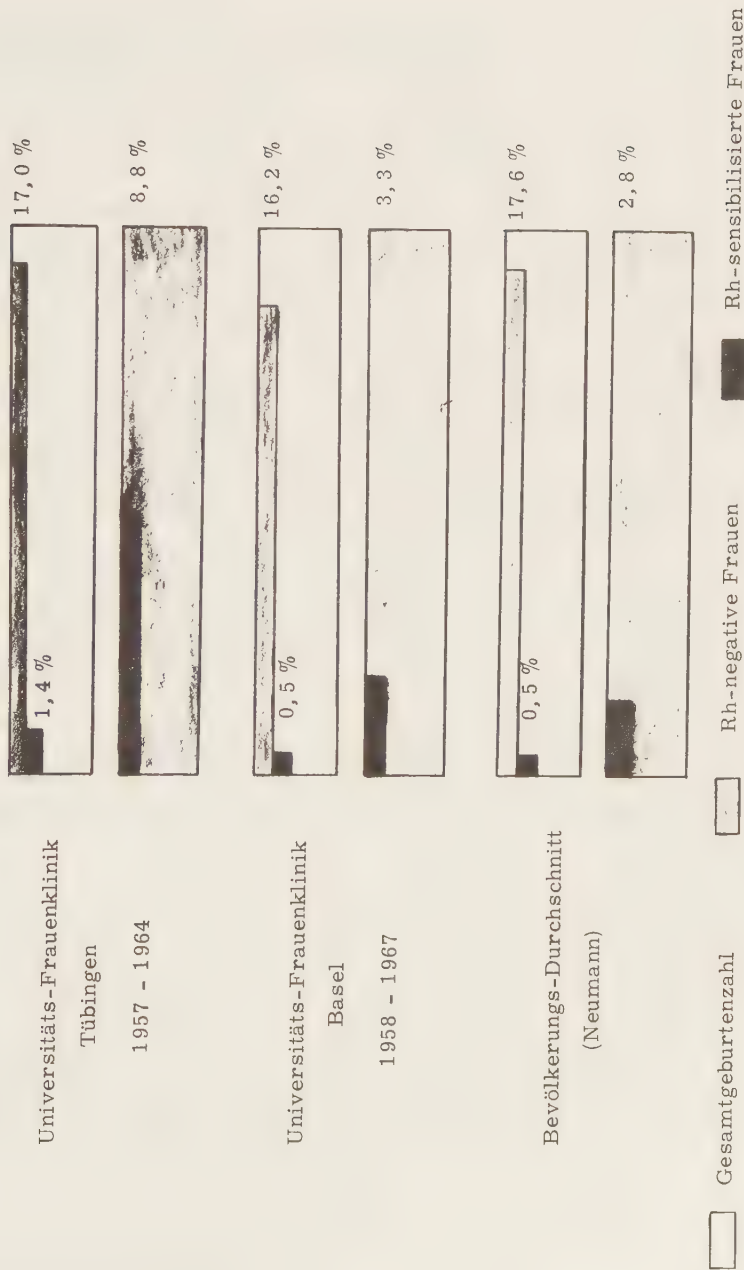
Prozentzahlen in Klammern
(aus: PROKOP u. UHLENBRUCK, 1965)

TABELLE 11

Nach Angaben des BEHRING-Codex, das Tetanol sei eine vollständig entgiftete und eiweißfreie Substanz, und nach einer persönlichen Mitteilung der Behringwerke scheint im Tetanol keine Blutgruppensubstanz mehr enthalten zu sein. Ebenso wurde von uns in orientierenden Untersuchungen auf Blutgruppensubstanzen im Tetanol mittels der Hämagglutinations-Hemmungsmethode keine solche gefunden. Es ist jedoch durchaus möglich, daß die Methode nicht empfindlich genug war, um die vom NIH als oberes Limit vorgeschriebenen Spuren noch nachzuweisen. Um durch diese evtl. doch vorhandenen Spuren von Blutgruppensubstanzen hervorgerufene Immun-Agglutinine bei den Probanden zu erfassen, wurde bei 20 Probanden der Blutgruppe O sowie bei 10 der Blutgruppe A mittels des AB-Gamma-Testes nach Immun-Agglutininen gegen A oder B geforscht. Alle 30 Untersuchungen ergaben jedoch ebenfalls ein negatives Ergebnis. Angesichts dieser Befunde ist es daher denkbar, daß im Tetanol wenn nicht Blutgruppensubstanz, so doch zumindest Substanzen mit einer den Blutgruppensubstanzen ähnlichen Struktur oder Teilstruktur enthalten sind, die im Nährboden entstehen oder bereits vorhanden sind. Aber auch das Tetanol selbst als Toxoid könnte eine Affinität zu den Iso-Agglutininen aufweisen.

Verschiedene Autoren haben Untersuchungen vorgenommen, die hier weiterführen könnten. So fiel HINDEMANN (1968) auf, daß die Sensibilisierungsrate Rh-negativer Frauen bei Rh-inkompatibler Schwangerschaft nach aktiver Tetanusschutzimpfung bei den nachfolgenden, ebenfalls Rh-inkompatiblen Schwangerschaften, signifikant niedriger lag als bei nicht behandelten Vergleichszahlen der Universitäts-Frauenklinik Tübingen (s. Tab. 12 (aus HINDEMANN)). Analoge Befunde erhielt er bei dem Vergleich zweier Kollektive mit Kaiser-

Rhesussensibilisierungsfrequenz an den Universitäts-Frauenkliniken Tübingen und Basel unter Berücksichtigung des Bevölkerungsdurchschnitts nach Neumann



aus: HINDEMANN, 1968.

TABELLE 12

schnittentbindungen bei stattgehabter und fehlender Tetanus-Prophylaxe (Abb. 6). Er versucht diese Befunde - als vorläufige Arbeitshypothese - folgendermaßen zu erklären: Aus der Klinik und durch die schon erwähnten Untersuchungen von VAN HEYNINGEN ist bekannt, daß das Tetanus-Antigen eine Affinität zur Neuraminsäure der Ganglienzellen des ZNS hat. Diese ist jedoch auch in den Oberflächenstrukturen der Erythrozyten enthalten. Es ist daher u. E. nach möglich, daß es zum "Abfangen" der kindlichen, unter der Geburt eingeschwemmten, Erythrozyten und damit zur Verhinderung der Rh-Sensibilisierung durch eine Reaktion des unmittelbar post partum zugeführten Tetanus-Antigens mit der Neuraminsäure der Erythrozyten gekommen ist. Als Folge käme es dann zu einer Besetzung der neuraminsäurehaltigen Oberflächenstrukturen der kindlichen Erythrozyten.

Auf die vorliegende Untersuchung angewandt, würde das folgendes bedeuten: Auch Iso- und Immun-Antikörper enthalten Neuraminsäure als Bestandteil der determinanten Gruppen, wenn auch in geringer Menge (Tab. 13). Nach Zufuhr des Tetanus-Antigens könnte es daher zu einer Reaktion mit den Blutgruppen-Antikörpern kommen, d. h. zu einer Besetzung der Reaktionsorte der Iso-Agglutinine und damit zu dem beobachteten Titerabfall.

Dieser blieb jedoch über den gesamten Beobachtungszeitraum von 4 Wochen nach der letzten Impfung erhalten. Es kann sich also nicht nur um eine einfache Hemmung gehandelt haben. Vielmehr scheint noch folgendes hinzuzukommen: Das Tetanus-Toxoid ist ein kolloidales System aus an $\text{Al}(\text{OH})_3$ adsorbierten Toxoid-Molekülen. Nach der intramuskulären Injektion werden diese Komplexe

Rhesussensibilisierung und Tetanusprophylaxe

Sectio caesarea	ohne Tetanusprophylaxe	mit Tetanusprophylaxe
Anzahl der Fälle	27	20
Antikörperkontrolle positiv:		
4 - 7 Mt. post partum	-	0
in der 2. Gravidität	7	-

HbF-Zelleinschwemmung bei 50 Kontrollfällen 72 %.

(aus: HINDEMANN, 1968)

ABBILDUNG 6

Einige Charakteristika der Immunglobuline

	γ -Globulin	γ_{2A} -Globulin	γ_{2M} -Globulin
Synonyme	7-S-Globulin γ -Globulin γ_2 -Globulin	γ_{1A} -Globulin γ_{2A} -Globulin	γ_{1M} -Globulin γ_{2M} -Globulin 19-S-Globulin γ -Makroglobulin
Molekülgestalt	ellipsoid	ellipsoid	Polymer aus 6 ähnlichen Gruppen
Serum Konz, g/100 ml	0,8 - 1,5	0,05 - 0,20	0,05 - 0,10
dissoziierbar durch Mercaptane	-	-	-
Molekulargewicht	150000	150000	900000
Kohlenhydratgehalt	2,5 %	10,5 %	10,0 %
Hexose	1,2 %	4,8 %	5,2 %
Fucose	0,3 %	0,2 %	0,6 %
Hexosamine	1,1 %	3,8 %	2,9 %
Neuraminsäure	0,2 %	1,7 %	1,7 %
Stickstoff	15,6 %	16,2 %	14,5 %
Sedimentationskonstante (S_{20}^w)	6,8 S 6 - 7	7 S 7 (80 - 85 %)	19 S 18 - 20
elektrophoretische Beweglichkeit			
pH 8,6 (-10^{-5} cm $V^{-1}sec^{-1}$)	-0,6 - +3,0	+1,2 - +3,6	ungef. +2
Fraktion III nach PORTER	+	-	-
Membranaffinität	+	-	-
antikomplementäre Wirkung	+	-	-
Plazentargängigkeit	+	-	-
auslösende Antigene	gelöste Antigene	Allergene	partikuläre Antigene
Kennzeichen des Antikörpers	Spät-AK, hochspezifisch	Reagine	Früh-AK, wenig spezifisch
biologische Eigenschaften			
Antikörperaktivität	+		+
Genotyp-Spezifität			
Gm	+	-	+
Inv	+	+	+
Kutanfixation	+	0	0
Kombination mit Rheumafaktor	+	0	0

(aus: PROKOP u. UHLENBRUCK, 1965)

protrahiert aus dem Injektionsdepot freigegeben. Damit wird einerseits eine Verlängerung der antigenen Wirkung erreicht, andererseits scheint hiermit aber auch eine protrahierte Bindung der Iso-Agglutinine verbunden zu sein.

Mittels dieser These ließen sich folgende Befunde deuten:

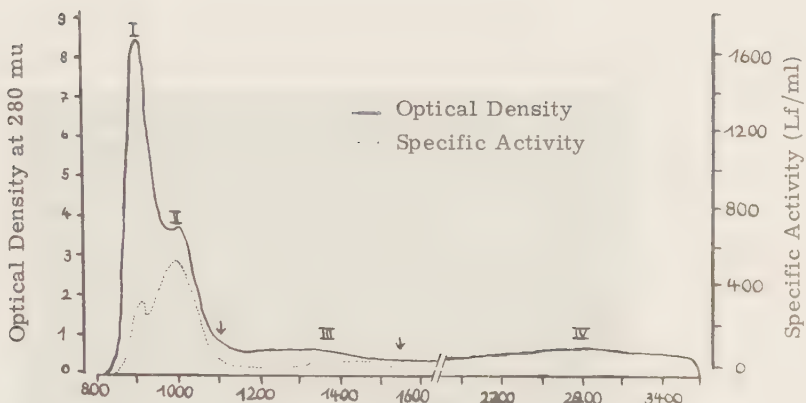
1. Die Persistenz der Titerenkung der Iso-Agglutinine über den Beobachtungszeitraum von 4 Wochen nach der letzten Impfung,
2. die Tatsache, daß die größte Anzahl der Titerenkungen in der Blutgruppe O bei den Lysinträgern und -Bildnern zu finden ist, also den "immunologisch stimulierten" Probanden, die auf diesen protrahierten Reiz besonders deutlich reagieren. Bei den Nicht-Hämolysinbildnern überwogen die Titeranstiege - hier also könnte ein schlechteres Ansprechen auf immunologische Reize vorliegen.
3. Die auffällige Erscheinung, daß die A-Probanden in der überwiegenden Mehrzahl einen Titerabfall zeigten. Vielleicht ist die Ursache hierfür ein höherer Gehalt des Anti-B an Neuraminsäure als des Anti-A.

Allerdings wäre ein Beweis dieser Thesen erst möglich z. B. durch Inkubation von Tetanol mit Erythrozyten oder gereinigten Iso-Agglutininen und dann im OUCHTERLONY-Test Prüfung der Agglutinationsstärke des Tetanol gegen Tetanus-Antikörper oder der Iso-Agglutinine gegen eine bekannte Erythrozytenmenge.

Andererseits aber könnte auch folgendes Phänomen vorliegen: daß nicht das Tetanol eine blutgruppenspezifische Wirkung entfaltet, sondern daß nicht-dialysierbare Nährbodenbestandteile eine Affinität zu den Iso-Agglutininen haben und deren Titer senken. Dabei könnten natürlich sie selbst oder auch in ihrer Verbindung mit dem Iso-Agglutinin (als Hapten also) eine antigene Wirkung entfalten und zu einer, natürlich nicht erwünschten, "Begleitimmunsierung" führen.

In dieser Frage weiterführen könnte eine Untersuchung von LATHAM et al.: "Purification and characterization of tetanustoxoid and toxin" (1965). Hier wird ein Standard-Toxoid durch Gel-Filtration (mit Sephadex G 100) in einzelne Fraktionen aufgetrennt. Das für diese Untersuchung verwandte Toxoid stammte aus laufender Produktion des Massachusetts Institute of Laboratories, USA. Die toxische Qualität betrug etwa 1000 Lf/mg N. Durch Messung der UV-Absorption bei 280 nm wird festgestellt, daß sich das Toxoid in vier Fraktionen aufteilt (Abb. 7). Bei Untersuchung der Fraktionen auf nicht dialysierbaren Stickstoff fanden sich 63,3 % in den Fraktionen I und II, 17,7 % in Fraktion III und 19,0 % in Fraktion IV (Abb. 7). Die Fraktionen I, II und III zeigten eine Flockungsreaktion mit TAT in einem Agar-Gel-Diffusionstest (Abb. 8). Fraktion I und II erwiesen sich auch als immunisatorisch potent, während die Fraktion III "ineffective as an immunising agent" war. Sie hat eine kleinere Molekülgröße und reagierte zwar in vitro mit TAT, war jedoch in vivo bei Tieren nur wenig antigen wirksam. Die Fraktion IV bestand aus nicht dialysierbaren und unspezifischen Beiprodukten des Bakterienstoffwechsels, die keine Präzipitation mit TAT im Diffusionstest zeigten. Bedauerlicherweise wurde hier nicht untersucht, ob in dieser Fraktion Blutgruppensubstanzen oder blutgruppenaktive Prinzipien enthalten waren.

Nach diesen Befunden scheint es also durchaus möglich, daß eine im handelsüblichen Toxoid enthaltene, nicht Tetanol-spezifische, Fraktion zu einer "Begleitimmunsierung" führen kann.



G-100 gel filtration, initial run, tetanus toxoid Lot LP256, complete, 100,000 flocculation units (Lf).

Nitrogen recovery, tetanus toxoid lot LP 256, G 100 gel filtration, initial run

Fraction	Volume	Nondialyzable Nitrogen	
		Amount Recovered	Percentage of total recovered
	ml	mg	
I + II	250	60.0	63.3
III	480	16.8	17.7
IV	2250	18.0	19.0
Total	2980	94.8	100.0
Original	50	97.4	

(aus: LATHAM et al., 1965)

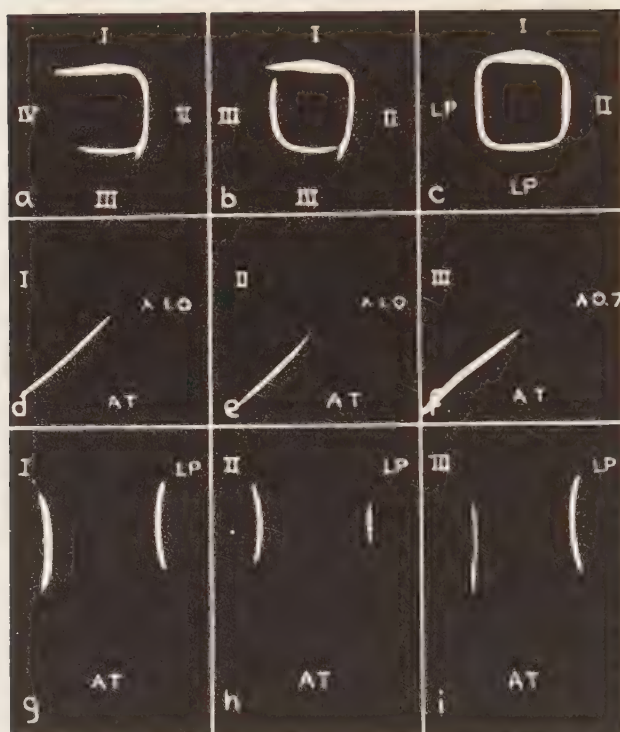


Figure 4. Microagar double diffusion and microagar electrophoresis patterns obtained with tetanus toxoid lot LP213P and purified fractions. All reactants used at concentrations of 100 Lf/ml. LP = LP213P; I, II, III and IV = Sephadex purified Fractions I, II, III and IV; AT = tetanus antitoxin. This label was omitted from central well of a, b and e for clarity. The value λ is the slope of the line obtained with the right angle slot template.

(aus: LATHAM et al., 1965)

Gestützt wird diese Annahme durch eine Untersuchung von LOCKE et al. (1965). Hier wurden Tetanus-Antikörper-Seren mit der Ultrazentrifuge aufgetrennt und dabei zwei verschiedene Komponenten des TAT gefunden: eine mit einer Schwere von 6,6 S und eine weitere mit 18,0 S. Weiter fanden sie, daß die 18 S-Antikörper hitzestabil sind und nach 7 Tagen, die 6,6 S-Antikörper dagegen hitzestabil und erst nach 9 Tagen auftreten. Die chromatographische Auftrennung der 6,6 S-Fraktion zeigte noch zwei Untergruppen unterschiedlicher Wanderungsgeschwindigkeit.

Leider wurden unseres Wissens keine weiteren Untersuchungen über die nähere Identifikation dieser drei Fraktionen unternommen, insbesondere über die Avidität gegen Toxoid und ihre eventuelle Wirksamkeit gegen Blutgruppensubstanzen.

Hierher gehört als Drittes folgender von uns erhobener Befund: Bei einem Teil der Probanden aus der Versuchsgruppe trat nach der zweiten Impfung in den TAT-Präzipitaten bei Titern um 5 IE/ml Serum, vor allem aber bei 10 IE/ml Serum eine deutliche Doppelbande auf - dies ohne Abhängigkeit von der Blutgruppe oder auch von der Vorimmunisierung (die Zahlen sind jedoch für eine sichere Beurteilung zu klein). Ebenso war eine Doppelbande bei einem serologisch nicht auswertbaren Angehörigen der Blutgruppe AB nachzuweisen. Dieser Befund ist bedeutsam, weil er beweisend für die Tatsache sein könnte, daß es sich bei diesen Doppelbänden allenfalls um die bei LATHAM et al. beschriebenen unspezifischen Beiprodukte, nicht aber um Blutgruppensubstanzen handelt. Ob die bei LATHAM et al. beschriebene Fraktion IV mit der bei uns gefundenen Doppelbande (die dann Ausdruck einer Immunisierung mit unspezifischen und deshalb unerwünschten Beiprodukten wäre) identisch ist, müßte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein. Es besteht natürlich auch die Möglichkeit, daß es sich bei der Doppelbande um die zweite der bei LATHAM et al. und auch bei LOCKE et al. beschriebenen Antigen- bzw. Antikörper-Fraktionen handelt.

Diese Frage wurde hier nicht weiter verfolgt, da sie über den Rahmen dieser Untersuchung hinausgeführt hätte.

In einer Fragebogenaktion des Blutspendedienstes Göttingen 1969 wurden 672 Probanden (Blutgruppe A 320, B 85, O 267) nach früheren Schutzimpfungen befragt und deren Seren auf Hämolysine untersucht. Es interessierte dabei, ob Hämolysine auch nach längerer Zeit nach aktiver Schutzimpfung in derselben Frequenz nachzuweisen sind, oder ob sie nach längerer oder kürzerer Zeit wieder abfallen zu einer Häufigkeit, wie sie etwa beim Kontrollkollektiv nachzuweisen war. Mit anderen Worten: Ist die Hämolysinbildung als eine besonders deutliche, aber passagere Reaktion auf ein immunologisches Stimulans zu betrachten, etwa als "Ersatzfunktion" für eine Titersteigerung, die auch sogar zu einem Titerabfall führen kann?

Die Befragung war so angelegt, daß nach Tetanus aktiv/passiv, Polio "und anderen" gefragt wurde. Die in der Kindheit übliche Tripel- und Tetra-Vakzine wurde als gegeben angenommen. Sie konnte hier auch vernachlässigt werden, weil bei dem Durchschnittsalter der Spender dieses immunologische Stimulans zeitlich zu lange zurücklag, um noch im "lysinogenen" Sinne wirksam sein zu können. Unter der Rubrik "andere" waren Typhus, Parathyphus A/B und Grippe zu verzeichnen, in einer zahlenmäßig jedoch nicht relevanten Menge. Sie wurden deshalb nicht extra berücksichtigt.

Ausgewertet wurde bei dieser Aktion nur die Blutgruppe O; bei den 320 Probanden der Blutgruppe A waren nur 3 Hämolysine festzustellen, bei denen der Gruppe B überhaupt keine. Tab. 13 zeigt die Er-

Blutgruppe O

1. Gesamtsumme Tetanus aktiv		147	
davon		a) Polio +	107 = 100 %
		b) Polio ϕ	40 = 100 %
<u>zu a)</u>	Lysine +	von 107 = 91	--- 85,04 %
	Lysine ϕ	von 107 = 16	--- 14,95 %
<u>zu b)</u>	Lysine +	von 40 = 33	--- 82,50 %
	Lysine ϕ	von 40 = 7	--- 17,50 %
2. Gesamtsumme Tetanus nicht geimpft		80	
davon		a) Polio +	62 = 100 %
		b) Polio ϕ	18 = 100 %
<u>zu a)</u>	Lysine +	von 62 = 55	--- 88,71 %
	Lysine ϕ	von 62 = 7	--- 11,29 %
<u>zu b)</u>	Lysine +	von 18 = 16	--- 88,89 %
	Lysine ϕ	von 18 = 2	--- 11,11 %
3. Gesamtsumme Tetanus passiv		30	
davon		a) Polio +	26 = 100 %
		b) Polio ϕ	4 = 100 %
<u>zu a)</u>	Lysine +	von 26 = 22	--- 84,61 %
	Lysine ϕ	von 26 = 4	--- 15,38 %
<u>zu b)</u>	Lysine +	von 4 = 4	--- 100,00 %
	Lysine ϕ	von 4 = 0	--- 0,00 %
4. Gesamtsumme Tetanus komb.		10	
davon		a) Polio +	8 = 100 %
		b) Polio ϕ	2 = 100 %
<u>zu a)</u>	Lysine +	von 8 = 6	--- 75,00 %
	Lysine ϕ	von 8 = 2	--- 25,00 %
<u>zu b)</u>	Lysine +	von 2 = 2	--- 100,00 %
	Lysine ϕ	von 2 = 0	--- 0,00 %

gebnisse. Sie ist so aufgebaut, daß die Gesamtzahl noch einmal unterteilt wurde in die Rubriken "Tetanus aktiv", "Tetanus nicht geimpft", "Tetanus passiv" und "Tetanus kombiniert"; weiter wurde unterteilt in "Polio +" und "Polio $\emptyset$ ". Die Tabelle zeigt, daß die Hämolsinträger in allen Rubriken zahlenmäßig ziemlich gleich verteilt sind und zwischen 82 und 88 % schwanken. Lediglich die Rubrik "Tetanus kombiniert" macht insofern eine Ausnahme, als hier die Hämolsinträger nur einen Anteil von 75 % ausmachen. Es ist daher wohl doch zu fragen, inwieweit die Hämolsinbildung eine passagere immunologische Reizantwort darstellt, die nach einer gewissen Zeit wieder verschwindet.

Vergleicht man die von HÄSSIG et al. (1955) erhobenen Untersuchungsbefunde mit den unsrigen, so läßt sich jetzt ein Anstieg der Iso-Agglutinititer nicht mehr verzeichnen; auch die Zunahme der Hämolsine ist bei weitem nicht mehr so ausgeprägt. Die Ursache hierfür ist wohl am ehesten in der inzwischen vorangetriebenen Verfeinerung der Züchtungs- und vor allem der Reinigungs-Methoden bei der Produktion des Tetanus-Toxoids zu suchen.

Als Deutung für die von uns erhobenen Befunde sollen hier noch einmal die u. E. in Frage kommenden Möglichkeiten aufgezeigt werden:

1. Titer senkung durch nicht-Tetanusspezifische Begleitprodukte des Impfstoffs, die aber eine blutgruppensubstanzähnliche Spezifität für Iso-Agglutinine aufweisen: Sie werden aus dem im Depot protahiert freigesetzt und führen so zu einer länger anhaltenden Senkung der Iso-Agglutinine.

2. Ausgehend von den Befunden HINDEMANN (1968) Reaktion des Tetanus-Antigens aufgrund seiner Neuraminsäure-Affinität mit den neuraminsäurehaltigen Iso-Agglutininen. Neben seiner Tetanus-spezifischen antigenen Wirksamkeit führt das Toxoid auch hier zu einer protrahierten Senkung der Iso-Agglutinine.

Für die Titerensenkungen der Hämolsinträger und -Bildner der Versuchsgruppe O ist eine Signifikanz statistisch gesichert. Die Hämolsinhäufigkeit war bei dieser Gruppe deutlich gesteigert. Als "Neubenbefund" schien sich anzudeuten, daß das Neuauftreten von Hämolsinen nicht unbedingt mit einer Steigerung der Iso-Agglutinititer verknüpft zu sein braucht und ebensowenig mit dem Auftreten von Immun-Agglutininen. Die deutliche Steigerung der Hämolsinhäufigkeit scheint ihre Ursachen in der intensiven unspezifischen immunologischen Stimulierung durch die Tetanolgabe zu haben.

Die eingangs gestellte Frage nach der Anwendung des Tetanols während der Gravidität (vorbehaltlich der ersten drei Monate) kann nach den hier erhobenen Befunden und im Einklang mit den Ergebnissen von HINDEMANN (1968) positiv beantwortet werden. Ebenso ist im Hinblick auf den "Universalspender" sowie den Morbus hämolyticus neonatorum bei ABO-inkompatibler Schwangerschaft kein Anhalt gegeben für das Auftreten von Immun-Agglutininen im ABO-System. Das Tetanol kann daher - nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung - in der Schwangerschaft - auch bei ABO-Inkompatibilität - unbedenklich angewandt werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 BEHRING-Codex, Impfstoffe - Heilseren, Plasmapräparate
Stuttgart 1964
- 2 BRINDLE M. J., TWYMAN D. G.: Allergic reactions to tetanus-toxoid: report of four cases.
Brit. M. J. I, 1116, 1962
- 3 Bericht über den 86. Deutschen Chirurgenkongreß
München, April 1969
Selecta XI, 29, 2346, 1969
- 4 COX C. A., KNOWELDEN J., SHARRARD W. J.: Tetanus prophylaxis
Brit. M. J., II, 1360, 1963
- 5 EDSALL G.: Specific prophylaxis of tetanus
J. A. M. A., 171, 417, 1959
- 6 EISEN A. J., COHEN J. J., ROSE B.: Reaction to tetanus toxoid. Report of a case with immunologic studies
New Engl. J. Med. 296, 1408, 1963
- 7 ESCHE P., v. d.: Zschr. Immunforsch., 95, 44, 1939
- 8 FISCHER K., LURATI M.: Eine Methode zur Unterscheidung natürlich vorkommender AK. von Immun-AK. für die Diagnose d. ABO-Erythroblastose ("AB-Gamma-Test")
Klin. Wschr. 37, 493 - 495, 1959
- 9 FISCHER K.: Hämolytische Neugeborenen-Erkrankungen infolge ABO-Inkompatibilität
Bibliotheca Gynäkologica, Fasc. 38, Basel/New York 1966

- 10 FURUHATA T., EGUCHI M.: The change of the agglutinin titer with age
Proc. Japan. Acad., Vol. 31, No8, 555, 1955
- 11 FURUHATA T., MATSUNAGA E.: Studies on the heredity of the group specific isoagglutinins in human normal serum
V. Proc. Japan. Acad., 28,8, 456, 1952
- 12 GALLASCH, E.: Antikörperteste unter Verwendung von Enzymen. Ärztl. Fortbildung, 1970, S. 237
- 13 GOLD, E.R.: The frequency of anti-A and anti-B haemolysins in Bristol, Bombay and Hyberadad
Man, 159, 1961
- 14 GOLD H., BACHERS H.: J. Immunol. 47, 335, 1943
- 15 GREENBERG L.: International standard for tetanus toxoid
Bull. Org. mond. Santé, 9,837 - 842, 1953
- 16 GREENBERG L.: The relativ immunizing efficiency of tetanus toxoid preparations
Bull. Org. mond. Santé, 9,761 - 748, 1955
- 17 HAAS R., THOMSEN R.: Accelerated immunization by repeated and large antigenic stimuli
in: ECKMANN L. (Hrg.): Principles on Tetanus, Huber, Stuttgart/Bern 1966
- 18 HÄSSIG A., ROSIN S., ROTHLIN A.: Über Iso- und Heteroimmunisierungen im ABO-Blutgruppensystem im Hinblick auf die Frage des gefährlichen O-Spenders
Klin. Wschr., 33,11/12, 259, 1955
- 19 HANSEN F.: Die Tetanusschutzimpfung, in:
SPIESS H. (Hrg.): Schutzimpfungen (2. Aufl.) Stuttgart 1966

- 20 HARMSEN, H.: Gesundheitsfürsorge 18,114, 1968
- 21 HERRLICH A. (Hrg.): Handbuch der Schutzimpfungen
Berlin 1965
- 22 HEYNINGEN E. van: Scientific American 1969, S. 70 ff
- 23 HEYNINGEN E. van: Ann. Inst. Pasteur 97,733, 1952
- 24 HEYNINGEN E. van: J. gen. Microbiol. 20,291, 1959
- 25 HEYNINGEN E. van: J. gen. Microbiol. 20,301, 1959
- 26 HEYNINGEN E. van: J. gen. Microbiol. 20,310, 1959
- 27 HEYNINGEN E. van: Brit. J. exp. Path. 42,397, 1961
- 28 HEYNINGEN E. van: J. gen. Microbiol. 31,375, 1963
- 29 HEYNINGEN E. van, MELLANBY J.: Biochemical research
on the mode of action of tetanus toxin
in: ECKMANN L. (Hrg.): Principles on Tetanus, Huber,
Stuttgart/Bern, 1966
- 30 HEYNINGEN E. van, MILLER P.A.: J. gen. Microbiol.
24,107, 1961
- 31 HINDEMAN, J.: Pers. Mitteilung (1968)
- 32 HUMMEL K.: Der Nachweis bindender, aber nicht aggluti-
nierender Antikörper (Glutinine) in Blutgruppenserum mit
Hilfe von PVP
Zschr. Immunit. forsch., 107,418, 1950
- 33 HUMMEL K., DOOSE H.: Untersuchungen über Ballungsfak-
tor und inkomplette Kälteagglutinine in Normalplasmen mit-
tels des Kollidontestes
Zschr. exper. Med. 118, 528, 1952

- 34 JAME L., JUDE A.: C.r.Soc.Biol. 122,1267, 1936
- 35 JUNGWIRTH J.: Beobachtungen über den Placentarübertritt der menschlichen Iso-Antikörper des ABO-Blutgruppensystems mit besonderer Berücksichtigung der Hämolysine
Blut, I, 1965, 1955
- 36 LATHAM C.W., JENESS C.P., et al.: Purification and characterization of Tetanus toxoid and toxin
J. Immunol. 95,487, 1965
- 37 LOCKE R.F., SERGE D.: Heterogenity of sheep diphtheria and tetanus antibodies
J. Immunol. 95, 480, 1965
- 38 MUELLER J.H., MILLER P.A.: (Über Cl. tetani - Nährböden und Kaseinhydrolysate)
J.Bact. 69,634, 1955
- 39 MUELLER J.H., MILLER P.A.: (ebenso)
J. biol. chem. 223, 185, 1956
- 40 National Institute of Health (NIH), U.S. Department of Health, Education and Welfare. Public Health Service: Minimum requirements: Tetanus Toxoid
4. Remission; Bethesda 14, Md. USA 1952 (als Manuskript gedruckt, kann angefordert werden)
- 41 NEU H.: Versuche zu Titersteigerungen von Blutgruppen-Antikörpern durch perorale und perkutane Zufuhr spezifischer Antigene
Diss., Bonn 1952
- 42 OTTENSOOSER F.: Über die Gruppensubstanz A des Peptons und des Diphtherietoxins
Klin. Wschr., 1716, 1932

- 43 PARISH H.J., OAKLEY C.L.: Anaphylaxis after injection of Tetanus toxoid
Brit. med. J., i (I), 294, 1940
- 44 PARISH H.J., CANNON D.A.: Prevention of Tetanus
Brit. med. J., i (I), 868, 1962
- 45 PATEL J.C., MEHTA B.C., DHIRAWANI M.K., MEHTA V.R.: Relapse and recurrence of Tetanus
J.Ass. Physcns. India, 9, 1-5, 1961
- 46 PEETOM F., VAN DER MEER M.: The antigenic structure of Tetanus toxin and toxoid and its relationship with Tetanus immunology in; ECKMANN L. (Hrg.): Principles on Tetanus, Stuttgart 1966
- 47 PROKOP O.: Experimentelle Untersuchungen über die Sensibilisierung gegen Blutgruppenantigene
Bouvier, Bonn 1956
- 48 PROKOP O., UHLENBRUCK G.: Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen, 2. Auflage
Leipzig 1965
- 49 RABINOVIČ E.A.: Isohämolysé des Blutes eines Universal-spenders
Nov.chir. Arch., 47, 231, 1940 (russ.)
- 50 RAMON G.: Le principe des anatoxines et ses applications
Masson et Cie Ed., Paris 1950
- 51 RAMON G., FALCHETTI E.: Recherches experimentales sur l'immunisation antitetanique passive. Elimination rapide de l'antitoxine lors de reinjections de sérum antitetanique
C.R. Soc. Biol. (Paris), 119, 6 - 10, 1935

- 52 REGAMEY R.H.: Etude experimentale sur la resorption et l'elimination du sérum antitetanique chez le lapin
Schweiz. Z. allgem. Path., 7, 500 - 504, 1944
- 53 REGAMEY R.H.: Ergebn. Microbiol., 32, 270, 1950
- 54 REGAMEY R.H.: Path. et Biol., 7, 1979, 1959
- 55 REGAMEY R.H.: La vaccination active contre le tétanos
Ergebn. Microbiol. 32, 270 - 381, 1959
- 56 REGAMEY R.H.: Les accidents et les échecs de la vaccination contre le tétanos
Path. Biol., 7, 1979 - 1986, 1956
- 57 REGAMEY R.H.: Die Tetanusschutzimpfung
in: HERRLICH A. (Hrg.): Handbuch der Schutzimpfungen
Berlin 1965
- 58 SCHEIBEL J.: Bull. Org. mond. Santé, 13, 381, 1955
- 59 SCHELLONG G.: Über den Einfluß mütterlicher Antikörper des ABO-Systems auf Reticulozytenzahl und Serumbilirubin bei Frühgeborenen
Z. Kinderheilk. 90, 134 - 139, 1964
- 60 SCHIFF F.: Über den Abbau blutgruppenspezifischer Substanzen bei Bakterien
Klin. Wschr., 14, 750, 1935
- 61 SCHIFF F.: An Ecto-Enzyme of clostridium welchii which decomposes blood group specific substance
A.J. Infect. Dis. (Chicago), 65, 127, 1935
- 62 SCHIFF F., ADELSBERGER L.: Über blutgruppenspezifische Antikörper und Antigene
Ztschr. Immunit. forsch, 40, 4/5, 335, 1924

- 63 SCHIFF F., MENDLOWICZ L.: Quantitative Untersuchungen über Iso-Agglutinine mit besonderer Berücksichtigung der Leukämie
Zschr. Immunit.forsch., 48,1, 1926
- 64 SCHIFF W.: Zur Frage der Spezifität der Reaktionstypen von A/B/O-Seren, II. Mitteilung: Serologische Untersuchungen bei O- und A-Menschen vor und nach der Immunisierung mit B- und A-Speichel
Zschr.Immunit.forsch., 117,1, 1959
- 65 SCHLEGEL J.J.: Tetanustherapie und Prophylaxe
Dtsch.Z.Chir., 284,80 - 102, 1956
- 66 SCHMIDT G.: Über den Einfluß von Periston auf einige serologische Phänomene in vitro
Zschr.Immunit.forsch., 107,341, 1950
- 67 SCHOBER K.L., ROSSNER H., KORNMAN G.:
Bruns' Beitr.Klin.Chir., 195,290, 1957
- 68 SMITH R.E., WOLNISTY C.: Allergic reactions to tetanus, diphtheria,influenca and poliomyelitis immunization
Ann.Allerg., 20,809, 1962
- 69 SPEISER P.: Die Serologie des ABO-bedingten Morbus haemolyticus neonatorum
Bibl. haematol., vol. 20,249-259, (Karger, Basel/New York, 1965)
- 70 SPIESS H. (Hrg.): Schutzimpfungen (2. Aufl.)
Stuttgart 1966
- 71 SPRINGER G.F., HORTON R., FORBES M.: Origin of Anti-human blood group B agglutinins in white leghorn chicks
J. Exper.Med., 110,2, 221, 1959

- 72 SPRINGER G.F., TRITTEL H., LEUTERER W.: Blood group isoagglutinin stimulation by feeding dead blood group active *E. coli* 0₈₆
VIII. Intern. Congr. f. Microbiology 1962 (Abstract)
- 73 STIRNEMANN H.: Tetanus - Pathogenese, Behandlung, Komplikationen, Prophylaxe
Bern/Stuttgart 1966
- 74 TASMAN A.: L'immunité antitetanique
Ann. Inst. Past., 97, 718, 1959
- 75 UHLENBRUCK G.: Zur Definition der Panhämagglutination unter besonderer Berücksichtigung des Thomsen-Friedenreichschen Phänomens
Zbl. Bakt., I. Ref., 179 (229), 155, 1961
- 76 UHLENBRUCK G.: Nochmals zum Thema Panagglutination
Zschr. ärztl. Fortbild., 56, 14, 758, 1962
- 77 UHLENBRUCK G.: Blutgruppenantigene in Erythrozyten
Dtsch. med. Wschr., 88, 3, 143, 1963
- 78 VOLKHEIMER G.: (über das Phänomen der "Persorption"),
in: PROKOP u. UHLENBRUCK, Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen,
Leipzig 1965
- 79 WALL C.A.: Americ. J. Surg., 95, 664, 1958
- 80 WELCKER A.: Titterschwankungen der Hämagglutinine
Zschr. Immunit. forsch., 105, 165, 1945
- 81 WHITE W.G., UNGAR J.: Practical aspects in Tetanus prophylaxis in a factory population
in: ECKMANN L. (Hrg.): Principles on Tetanus, Huber, Stuttgart/Bern 1966

- 82 WILDFÜHR G.: Untersuchungen über den Isoagglutinintiter
des Menschen
Zschr. Immunit.forsch., 105, 417, 1945
- 82 WINTZER, G. et al.: Schnelltest zum Nachweis unkompletter
Antikörper.
Dtsch. Med. Wschr. 24, 1970, 1323 - 1325
- 84 WITEBSKY E., KLENDISHOJ N. C., McNEILL C.: Potent
typing sera produced by treatment of donors with isolated
blood group substances
Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 55, 167, 1944

Quantitative Tetanus-Antikörper-Bestimmung im Agar-
Gel-Diffusionstest.

A. TECHNIK:

1. Herstellen der Agarlösung

a) Reinagar BW 2 % ig.⁺

2 g Reinagar BW

50 ml Diäthylbarbitursäure-Acetat-Puffer (pH 8,2), Ionen-
stärke = 0,1⁺

50 ml Aqua dest

15 Min. im Dampftopf oder Wasserbad erhitzen. Anschlie-
ßend Zugabe von 0,4 ml einer 2,5%igen Thiozid-Lösung,-
(10 mg p-Äthyl-mercuri-thiobenzolsaures Natrium) als
Konservierungsmittel.

Ionenstärke des Agargels = 0,05⁺⁺.

b) Agarose BW 2 % ig.

Wie a.

2. Gießen der Agar-Gel-Mikroplatten mit Reinagar BW oder
Agarose BW.

a) Reinigen der Objektträger.

Ungebrauchte Objektträger 24 Std. in Chromschwefelsäure
reinigen (Schutzbrille), mit Wasser abspülen und bis zum
Gebrauch in 96%igem Alkohol (vergällt) aufbewahren.
Bei Bedarf Objektträger mit einem sauberen Leinentuch
abtrocknen.

b) Objektträger waagerecht lagern (Wasserwaage benutzen)
und mit 3,0 ml Agarlg. beschicken. (5 ml Pipette mit
großem Auslauf.)⁺⁺

c) Nach dem Erstarren (ca. 5 Min.) mit verschiedenen Stanz-
geräten⁺⁺⁺ Rillen und Löcher ausstanzen.

Um den Abstand der Löcher von der Rille einhalten zu können, Schablone benutzen.
Mit einer Nadel oder Kanüle ausgestanzten Agar herausheben. Dabei darf sich der übrige Agar nicht von seiner Unterlage lösen. Objektträger bis zum Gebrauch in einer feuchten Kammer (Sonderanfertigung) lagern, höchstens 24 Std.

3. Antigen

Verwendet wird ein Tetanustoxoid mit 10 Lf Antigen/ml.
Mit einer dünnen Kapillare Rille mit Antigen füllen.

4. Serum

Als Kontrolle verwendet man ein Human Standard-Serum, wobei in das Loch a ein Human-Standard-Serum mit 10 IE (Internationale Einheiten) und das Loch b 5 IE/ml gegeben werden.
Die übrigen Löcher mit dem zu prüfenden Serum beschicken.
S. Zeichnung 1.

Die Objektträger in einer feuchten Kammer 12 Std. bei $+ 37^{\circ}\text{C}$ und 12 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahren.

5. Waschen der Agar-Gel-Mikroplatten

Um alles nicht präzipitierte Protein aus dem Agar zu entfernen, werden die Agarplättchen in Petrischalen gegeben und mit physiol. Na Cl-Lsg. überschichtet und 1 - 2 Tage in dieser gewaschen, wobei die physiol. Na Cl-Lsg. einmal gewechselt werden muß. Liegen die Agarplättchen länger als 2 Tage in physiol. Na Cl-Lsg., ggf. einige Tropfen Thiozid zusetzen.

6. Trocknen der Agarplatten

Agarplatten aus der physiol. NaCl-Lsg. nehmen und 2 - 3 Std. zum Trocknen im Brutraum lagern.

7. Färben der Agar-Gel-Mikroplatten

1. Benötigtes Material.

a) 2%ige Essigsäure (2,0 ml Essigsäure 96%ig. + 98,0 ml Aqua dest.)

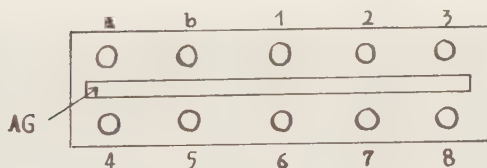
b) 0,5 % Amidoschwarz 10B in 1:10 verd. Methanol-Eisessig. (Farblösung filtriert in dunklen Flaschen aufbewahren).

c) Methanol-Eisessig 1:10 verd.

2. Durchführung der Färbung

- a) Um den Agar für den Farbstoff aufnahmefähig zu machen, müssen die Agarplättchen 5 Min. in 2%iger Essigsäure quellen.
- b) Danach 5 Min. in 0,5%iger Amidoschwarz-Lsg. färben.
- c) Anschließend überschüssigen Farbstoff 15 Min. in 1:10 verd. Methanol-Eisessig auswaschen.
- d) Objektträger trocknen lassen.

Zeichnung 1



AG = Antigen 10 LF/ml

a = Standardserum 10 IE

b = Standardserum 5 IE

1-8 = zu prüfendes Serum

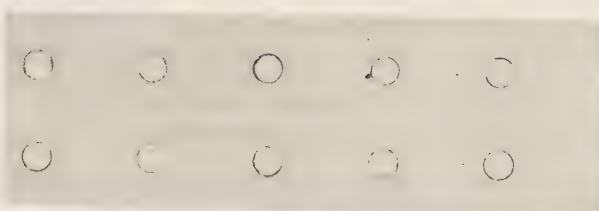
+ = Laboratoriumsblätter, Behringwerke AG, Marburg. Ausgabe Mai 1964, Erg. Neuauflage, Juni 1965, S. 14 Abs. b.

++ = Laboratoriumsblätter, Behringwerke AG, Marburg. Ausgabe Mai 1964, Erg. Neuauflage, Juni 1965, S. 12, Schema B

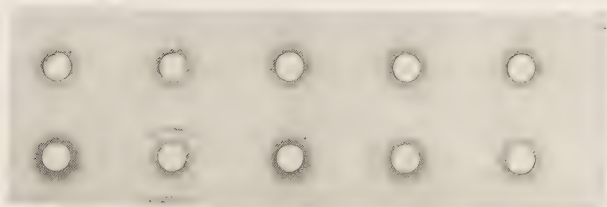
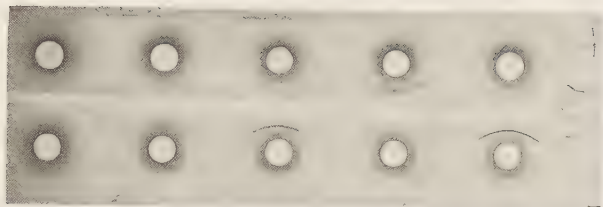
+++ = LKB, Gel-punch Type 6808 A Stockholm Schweden.
Alleinvertretung f. Dschl. West-Berlin. COLORA Messtechnik GmbH, 7073 Lorch (Württ. Barbarossastr. 3).

BEHRINGWERKE AG

Kontroll-Labor, den 7. 2. 67



Fotografien der Agar-Gel-Diffusionsteste mit Standardseren
mit 2,5 IE, 5 IE und 10 IE TAT/ml Serum.



Drei Beispiele für 5 IE und 10 IE TAT/ml Serum
aus dem Probandengut. Angedeutete Doppelbande rechts außen.

LEBENS LAUF

Am 16. 3. 1939 wurde ich in Göttingen als 2. Sohn des damaligen Privatdozenten für Geographie an der Universität Göttingen, Dr. phil. Hans Poser, und dessen Ehefrau Johanna geb. von Stiepel geboren. Ich besuchte die Volksschule in Göttingen und Braunschweig, das humanistische Gymnasium in Braunschweig und den altsprachlichen Zweig des mathematisch-naturwissenschaftlichen Tellkampfgymnasiums in Hannover, das ich 1960 mit dem Reifezeugnis verließ.

Nach zweijähriger Bundeswehrdienstzeit wurde ich im SS 1962 an der Universität Göttingen für die Fächer Biologie, Chemie und Geographie immatrikuliert. Nach zweisemestrigem Studium wechselte ich in das Fach Humanmedizin, das ich am 20. 6. 1968 mit dem Staatsexamen abschloß.

Die während des Studiums begonnene vorliegende Untersuchung führte ich 1971 zu Ende.

Nach einjähriger Medizinalassistentenzeit am Kreiskrankenhaus Springe/Deister erhielt ich am 1. 1. 1970 die Approbation als Arzt und bin seither am Städtischen Krankenhaus Hildesheim und Kreiskrankenhaus Diekhofen/Kr. Hildesheim als Assistenzarzt tätig gewesen.

Mein Ausbildungsziel ist die Anerkennung als Facharzt für Innere Medizin, Lungen- und Bronchialheilkunde.

Bad Salzdetfurth, den 15. Mai 1972

Herrn Prof. Dr. med. Heinz Spiess verdanke ich die Anregung zur vorliegenden Arbeit.

Herrn Dr. med. E. Gallasch, Leiter des Blutgruppenlaboratoriums und des Blutspendedienstes im Hygiene-Institut der Universität Göttingen bin ich für die zahlreichen weiterführenden und vertiefenden Anregungen sowie die intensive Betreuung außerordentlich dankbar.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen seines Labors, insbesondere Frau Fintelmann, danke ich an dieser Stelle sehr herzlich für methodische Beratung und Hilfen, insbesondere bei der Durchführung der Agar-Gel-Diffusionen und der AB-Gamma-Tests.

Herrn Oberstabsarzt Dr. med. Broschek, dem leitenden Arzt des San. -Bereiches der Gallwitz-Kaserne Göttingen und seinen Mitarbeitern bin ich für die Hilfe bei der Zusammenstellung des Probandenkollektivs zu Dank verpflichtet.

